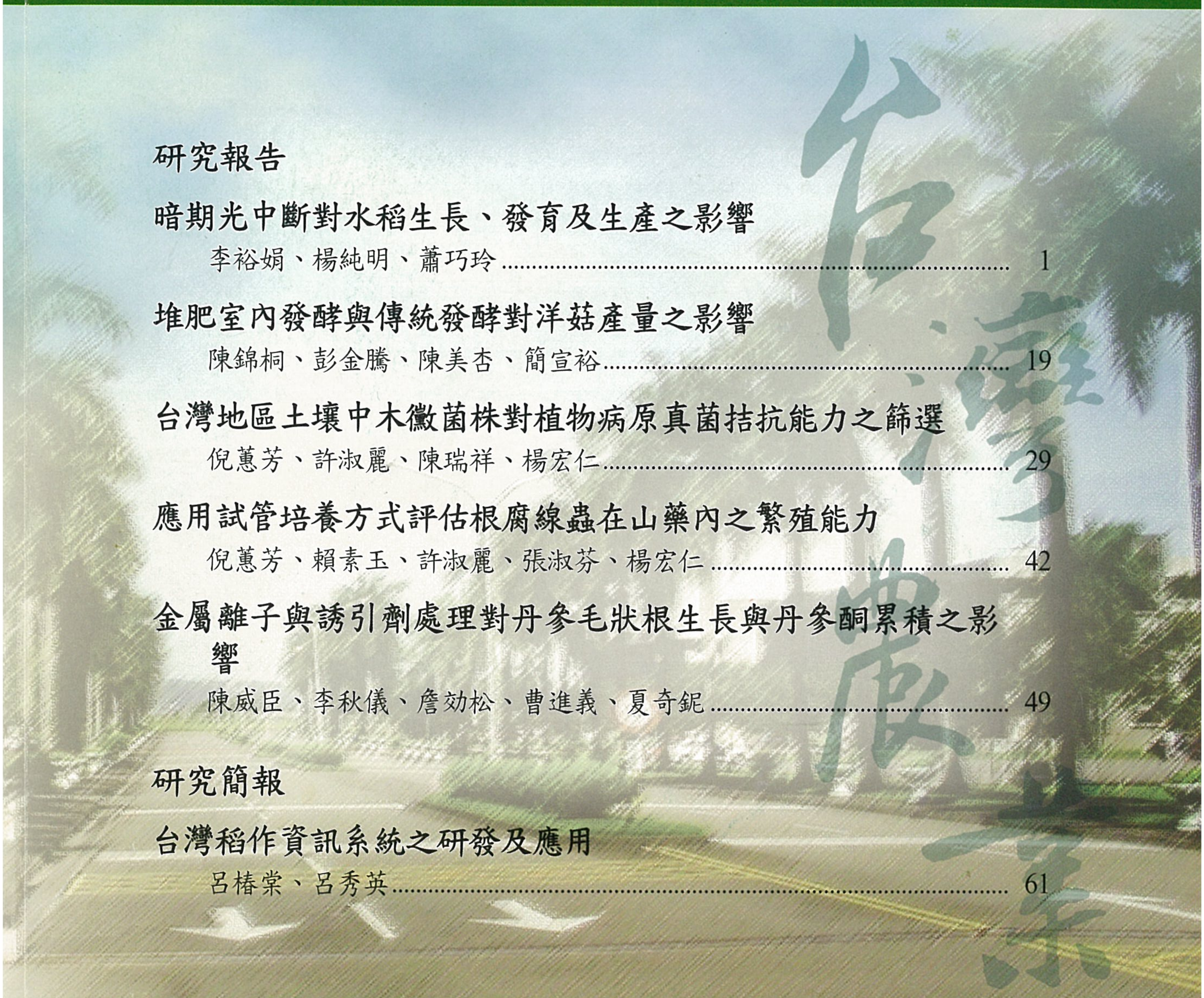
ISSN 0022-4847

台灣農業研究

第五十九卷　　第一期



研究報告

暗期光中斷對水稻生長、發育及生產之影響
李裕娟、楊純明、蕭巧玲 1

堆肥室內發酵與傳統發酵對洋菇產量之影響
陳錦桐、彭金騰、陳美杏、簡宣裕 19

台灣地區土壤中木黴菌株對植物病原真菌拮抗能力之篩選
倪蕙芳、許淑麗、陳瑞祥、楊宏仁 29

應用試管培養方式評估根腐線蟲在山藥內之繁殖能力
倪蕙芳、賴素玉、許淑麗、張淑芬、楊宏仁 42

金屬離子與誘引劑處理對丹參毛狀根生長與丹參酮累積之影響
陳威臣、李秋儀、詹効松、曹進義、夏奇鈮 49

研究簡報

台灣稻作資訊系統之研發及應用
呂椿棠、呂秀英 61

中華民國九十九年一月
行政院農業委員會農業試驗所出版
中華民國 台灣 台中縣 霧峰鄉

暗期光中斷對水稻生長、發育及生產之影響 [1]

李裕娟[2] 楊純明[2,3] 蕭巧玲[2]

摘　要

李裕娟、楊純明、蕭巧玲。2010。暗期光中斷對水稻生長、發育及生產之影響。台灣農業研究 59:1–18。

本研究於行政院農業委員會農業試驗所農場進行田間試驗，選用較低感光性稻種台稉 2 號 (TK 2) 及較高感光性稻種台稉 11 號 (TK 11) 為參試材料，利用高壓鈉燈 (HPSL)、水銀燈 (ML) 及不照光 (CK) 等三種光源進行夜間暗期光中斷處理 (時程介於 23：30 至 01：30，光照 2 小時)，據以探討短期夜間暗期光中斷對不同感光性稻種生長、發育及產量之影響。由位於不等光源距離稻株植被表面上方之光合作用光子流密度 (PPFD) 及光度測值分佈曲線，發現概以 HPSL 之光輻射測值大於 ML 者，並皆符合以距離平方倒數遞減比例衰降，在兩參試稻種所測得之趨勢類似。由於自插秧起至 50%抽穗所需天數及 50%抽穗至收穫所需天數均可能因為夜間光中斷而延長，顯示暗期光中斷將可能改變稻株發育進展及生育天數，而此一效應愈接近光源愈加明顯。暗期光中斷處理對參試稻種生長之影響，由收穫時調查之株高、葉片數、葉面積及植株各部位 (葉片、桿、穗) 鮮重與乾重等生長性狀顯示，ML 光照對株高的伸長效應低於 HPSL 光照，兩光源處理尚且僅有一期稻作近光源 (分別為 ≤ 2 m 及 ≤ 4 m) 稻株有輕微促進，二期稻作則幾無作用。此兩種光源處理在兩期稻作均可提高近光源 (≤ 4 m) 稻株之葉片數及葉面積，且 TK 11 表現大於 TK 2。另無論期作別，距離光源 4 m 以內兩稻種植體之葉重及桿重均增加，HPSL 之促進效果又高於 ML。穗重則呈現相反結果，夜間光照將明顯降低 TK 11 收穫之稻穗重量，特別是距離光源 4 m 以內稻株具有較大差異，HPSL 之抑制效果高於 ML；TK 2 亦有類似現象，而以 HPSL 光照差異較明顯。由產量性狀之分析，顯示暗期光中斷將會減少 TK 11 之有效分蘗百分比、稔實率及千粒重，且以距離光源小於 4 m 稻株受到的影響最大，然對千粒重的影響較小。TK 2 受到夜間光中斷的影響相對低於 TK 11，僅以距離 HPSL 光源 2 m 以內稻株受到較大影響。由收穫指數之變化，可知 TK 11 及 TK 2 均因暗期光中斷造成收穫指數降低，尤以小於 4 m 光源距離之稻株較為明顯。

關鍵詞：暗期光中斷、感光性、水稻、生長、生產。

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2383 號。接受日期：98 年 12 月 3 日。
2. 本所作物組助理研究員、研究員、助理研究員。台灣　台中縣　霧峰鄉。
3. 通訊作者，電子郵件：cmyang@tari.gov.tw；傳真機：(04)23317118。

前 言

作物之生長受到遺傳組成及周遭環境影響，而氣象、栽培管理與土壤條件則為三項最主要之環境因素。作物生育期間的環境變異是大自然的正常現象，惟因文明的進展與社會的都市化結果，使得作物的周遭環境開始遭受非自然的人為干擾 (Cotton & Pielke 1996)。諸如都市熱島效應帶來的異常高溫 (Chang & Liou 2005)，樓房街道夜間照明造成的光污染 (radiation pollution) (Mizon 2002; Normani 2004)，以及溫室效應引發的全球溫暖化 (global warming) 與氣候快速變遷等 (IPCC 2001)，這些都是由人類活動直接或間接引起的環境不正常變化，這些現象均會衝擊及影響農作物的生產。其中，對於包括水稻在內的光敏感性作物而言，夜間暗期光中斷或夜間照明等光害將因為破壞作物原來 (有) 光週期節奏，而可能導致如營養生長期延長、花期失調、花不結果、果不結實等生育失序情事 (Tesar 1984; Vergara & Chang 1985; Yin & Kropff 1996; Yin & Kropff 1998)，進而帶給農民和政府部門許多困擾和糾紛。

植物係地球上目前已知能夠將‘輻射光能’轉化為‘質量’的重要生物，可藉由光合作用生成初級醣類後再逐步轉換成各種次級碳水化合物 (如澱粉) 與生質量 (biomass)，作為多數動物的糧食源頭和生命基礎。光合作用有效的光輻射波長以 400–700 nm 可見光範圍為主，但是光對植物的效應除了光合作用之外，尚包括光週期 (photoperiod) 的調節、光質 (如紅光與藍光比例、紅光與遠紅外光比例等) 的光形態作用 (photo-morphogenesis) 以及對光線的正向與負向趨光性 (phototaxis) 等多種功能。根據文獻資料 (Gutterman & Porath 1975; Angrish 1998; Diplock *et al*. 1998; Mattson *et al*. 2005; Thomas 2006; Madigan *et al*. 2008)，太陽光輻射的紫外光 (100–380 nm)、可見光 (380–700 nm) 及近紅外光 (700–1050 nm) 等 3 個波段與植物的生長發育行為密切關聯，植物體內存在針對此三波段的感 (受) 光系統。其一為類胡蘿蔔素 (carotenoids) 系統，可接受 (收) 波長 450 nm 以下的光輻射刺激而引起趨光性及光形態作用。其二為葉綠素 (chlorophylls) 系統，主要吸收可見光 (尤以波長 660 nm 的紅光及 420 nm 的藍光) 進行光合作用並趨使植物向光移動，係植物生長的動力根源。其三為光敏素 (phytochromes) 系統，可感應紅光及近紅外光 (特別是波長 660 nm 及 730 nm 光輻射) 來控制許多和形態有關的反應，促進植物的分化而影響生育的進展。

植物周遭環境每天日長和夜長的週期變化對於植物生長、休眠、開花或結球等生育的影響，被稱為光週期作用 (photoperiodism) (Fosket 1994; Thomas & Vince-Prue 1996; Yin *et al.* 1997)。尤以光週期對被子植物 (angiosperms) 的開花效應最為人所熟悉 (Madigan *et al*. 2008)，即使各植株開始生長的日期未必均一，被子植物普遍有在一年當中的同一段時間同時開花的現象，如此將有利於植株授粉雜交。研究指出光週期作用係由光敏素誘導 (Thomas & Vince-Prue 1996; Thomas 2006)，經由明期 (白天) 與暗期 (夜間) 的交替輪迴形成 P_R (光敏素可吸收紅光的型式) 及 P_{FR} (光敏素可吸收近紅外光的型式)，當滿足了臨界暗期 (critical dark period, CDP) 所形成的足量 P_{FR}，即可誘引植株釋出開花激素 (florigen) 的生成反應從而啟動花芽分化流程 (Kendrick & Kronenberg 1993; Fosket 1994; Thomas 2006)。惟當植 (作) 物應有的暗期需求因為光害未能獲得滿足時，則可能引發連串異常的生理生化作用，進而改變遺傳控制的生育流程或原有環境觸發的生育步驟，無法適時導引出預定的花芽分化 (Izawa 2002; Thomas 2006)。

水稻品種多屬於短日照型植物 (short-day plant)，在水稻的營養生長期間 (稻種發芽至幼穗形成期) 必須藉助於臨界暗期的滿足來引發生殖生長，即必須暗期天數長於 CDP 以促進幼穗及花芽的形成 (Yin *et al.* 1997; Yin & Kropff 1998)。然而，不同稻種之間對於光週期的感應存在相當差異 (Chandraratna 1954; Best 1959; Evans *et al*. 1984; Collinson *et al*. 1992)，通常感光性較敏銳品種 (即臨界暗期較短者) 之開花期較早，感光性較鈍感品種 (即臨界暗期較長者) 則相對的開花期較晚 (Vergara & Chang 1985)，因此秈型稻、糯型性稻和早熟稉型稻品種可預期具有較強光敏感性。由於植物需要在夜晚將白天合成的簡單光合產物轉化為生長發育所需的各種複雜化合物，倘若接收額外夜間照明干擾正常生理代謝，則不僅會破壞原有光週期反應導致生育延緩，亦可能造成非預期的異常生長。Huang (2006) 之研究顯示，夜間連續照光將降低水稻產量 (一、二期作分別降低 20%、5%)，主要係每叢穗數及稔實率減少，而株高及穗長則明顯升高，生育日數亦因營養生長期的延長而增加。惟夜間暗期光中斷 (夜間短期光照) 對稻株生長、發育及產量的影響，則尚待試驗釐清。另外，在園藝作物也有類似效應，例如國內高屏地區栽植之長日照果樹印度棗，即因夜間光照處理而出現提前開花、增加開花數及提早產期等結果 (Chiou 1992; Chiou & Huang 1994; Chiou & Weng 2003)，且經整夜連續照明後產期可提早達 40 天 (Chiou & Weng 1996)。中部地區廣泛栽培的菊花若予夜間光照，將可促進營養生長而使得植株伸長、花莖加大，又因延遲開花日數而達到調節開花期目的 (Yeh & Huang 1979; Huang & Chu 1984)。

針對光環境的異常，大致可分從調適 (adaptation) 及緩解 (mitigation) 二種人為栽培管理方式予以解決‘光害’問題。在調適作法上，可以選擇對光照反應較不明顯的作物或品種，因此可在栽植之前篩檢各作物或選定作物各品種之感光性，擇一使用來適應無法改變的光環境。在緩解作法上，可藉由改變或更換光源組成，抑或施以反向作用光源照射來減輕、反饋或避免夜間光照的效應，以滿足或補償作物應有的暗期需求。本項研究利用短期夜間光照處理 (計有高壓鈉燈、水銀燈及不照光等三種)，探討夜間暗期光中斷對水稻生長、發育及產量之影響。未來再視試驗結果，選用特定波段 (長) 光源進行夜間暗期光中斷處理，評估水稻生育過程諸如縮短生育期、調節生產期或提高質量等之特殊應用可行性。

材料與方法

本研究之田間試驗在位於台中縣霧峰鄉之行政院農業委員會農業試驗所農場實施，試驗期間為 2007 年二期稻作及 2008 年一稻期作，參試稻種則為相對較高感光性之台稉 11 號 (TK 11) 及較低感光性之台稉 2 號 (TK 2)。依照預備試驗結果，前者之抽穗期因夜間光照延遲之日數大於後者。夜間暗期光中斷 (即夜間光照) 處理時程設定於午夜 23：30 至 01：30 之間，每天皆光照處理 2 小時，自插秧後 1 個月開始夜間照明直至收穫為止，而光源計有高壓鈉燈 (high pressure sodium lamp, HPSL; 70 W/220 V, E27, Philips Electronics N.V., Holland)、水銀燈 (mercury lamp, ML; 80 W/220 V, China Electronic MFG Corp., Taipei, Taiwan, ROC) 及不照光 (no light, CK) 等三種。光源架設高度為 3 m，置於各處理長方形田區 (長 25 m × 寬 10 m) 之一頂角。光源之光強度 (light intensity) 係以光度計 (light meter, Extech Instruments Corp., Waltham, MA, USA) 量測，光合作用光子流密度 (photosynthetic photon flux density, PPFD) 則以光量子測計 (quantum sensors, LI-189, Li-Cor Crop., NE, USA) 為之，分別在距

離光源 0.5、1、2、4、6、8 及 10 m 之水稻植被表面垂直上方測定。由於兩測計偵測之光輻射波長範圍均為 400–700 nm，因此乃將光強度 (簡稱光度) 與 PPFD 之關係繪製於圖 1，俾利於相互對照。

試驗於秧苗 3–4 葉齡期以南北向多本植機插於田區，土壤質地為壤土，酸鹼值 pH 5.36，有機質含量 2.21%。生育期間肥料施用係以硫銨 200 kg ha^{-1} 為基肥，於插秧後 1 週內施用；第 1 次追肥於插秧後 3–4 週實施，施予台肥 39 號複合肥料 200 kg ha^{-1}；第 2 次追肥於插秧後 5–6 週施用，施用量為尿素 100 kg ha^{-1}；抽穗前 2–3 週再施用硫銨 160 kg ha^{-1} 為穗肥。雜草防除上以 8%丁拉殺丹粒劑 30 kg ha^{-1} 在插秧後施用，又於第一次追肥前以人工除草 1 次。其他農藥施用則視病蟲害發生狀況並參考植物保護手冊 (2004) 而定，以 6%培丹粒劑 30 kg ha^{-1} 防治二化螟蟲，40.6%加保扶水懸劑 1.2 L ha^{-1} (1000× 稀釋液) 防治瘤野螟，50%歐殺松可濕性粉劑 1.2 kg ha^{-1} (1000× 稀釋液) 防治褐飛蝨，以及 50%維利黴素 1 L ha^{-1} (1000× 稀釋液) 防治紋枯病及其他病害。

為釐清暗期光中斷對水稻發育之影響，分別記錄每一光源處理之每一距離插秧、50%抽

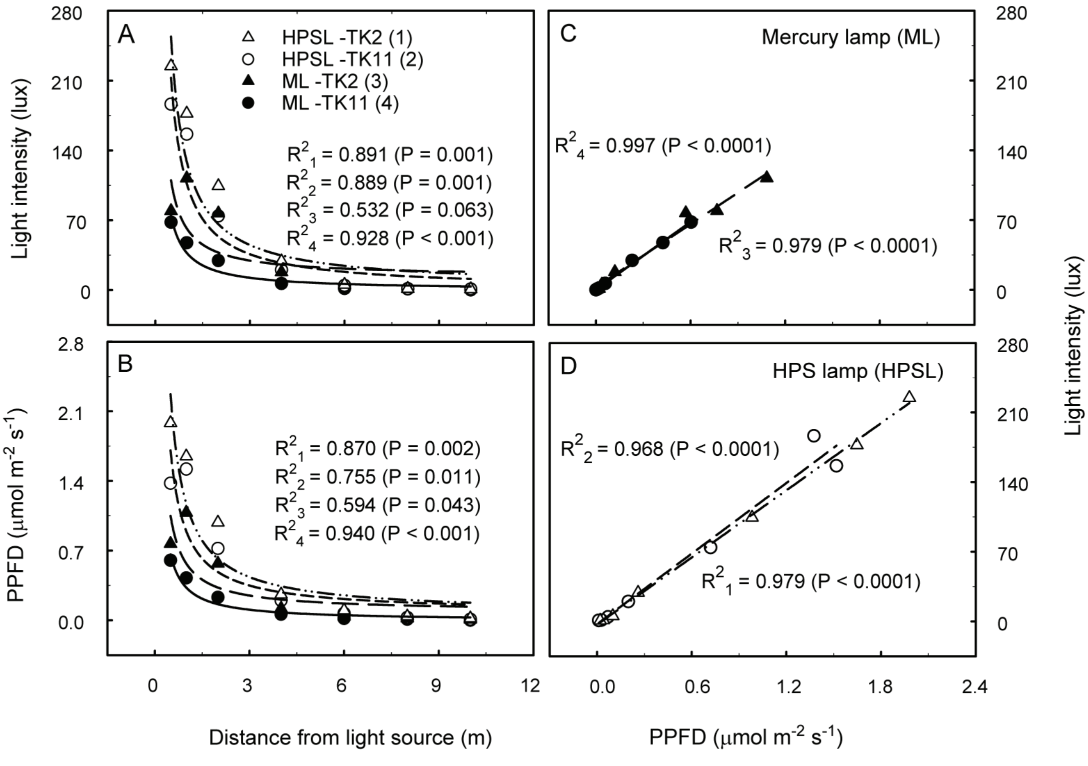


圖 1. 水銀燈 (ML) 及高壓鈉燈 (HPSL) 兩種光源於不同距離在兩個水稻品種 (台稉 11 號和台稉 2 號) 植被上方量測之光度 (lux) 與光合作用光子流密度 (PPFD) 分佈曲線及光度與 PPFD 之相關曲線。

Fig. 1. Changes of light intensity (A) and photosynthetic photon flux density (PPFD) (B) with distance away from light sources of mercury lamp (ML) and high pressure sodium lamp (HPSL) measured above canopies of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars TK 11 and TK 2 at a nadir at night, and the relationships between light intensity and PPFD for ML (C) and HPSL (D), respectively.

穗及收穫日期，以計算插秧至 50%抽穗所需天數、50%抽穗至收穫所需天數及全生育天數。而為瞭解暗期光中斷對水稻生長之影響，乃於收穫時取樣 (每一處理之每一距離皆 10 叢) 調查稻株生長性狀，包括株高 (PH)、葉片數 (LN)、葉面積 (LA) 及植株各部位 [葉片 (L)、桿 (C)、穗 (P)] 之鮮重 (FW) 與乾重 (DW; 80℃烘乾 72 小時)，並計算 LA/LN 比值。同時，亦於收穫時調查產量性狀，包括有效分蘗百分比 (percent effective tillers, PET)、稔實率 (percent filled grains, PFG) 及千粒重 (1000-grain weight, 1000-GW)。其中，PET = (穗數/分蘗數) × 100%，PFG = [稔實粒數/(稔實粒數 + 未稔實粒數)] × 100%，1000-GW 則為 1000 粒稔實穀粒重。又計算收穫指數 (harvest index, HI)，計算公式為 HI = [穗乾重/(葉乾重 + 桿乾重 + 穗乾重)] × 100%，以瞭解穗重占地上部植體重之比例。

結　　果

本研究採用之水銀燈 (ML) 及高壓鈉燈 (HPSL) 兩種光源，其光度及 PPFD 在田間隨著距離光源遠近之分佈曲線如圖 1 所示，概以高壓鈉燈光輻射測值大於水銀燈者，大致上距離光源愈遠則測值愈低，在兩參試稻種所測得之趨勢類似。兩種光源之光度與 PPFD 之間呈現直線關係，在相同 PPFD 測值之下水銀燈之光度值高於高壓鈉燈之光度值。

夜間暗期光中斷對參試稻種發育演進影響之調查結果列於表 1，資料顯示夜間光中斷將可能改變稻株生育進展及發育天數。自插秧起至 50%抽穗所需天數及 50%抽穗至收穫所需天數均可能因為夜間光中斷而延長，因而增加全生育天數。無論用高壓鈉燈或水銀燈光照都有延長生育期之效果，而以高壓鈉燈處理之延長效果大於水銀燈處理，較高感光性 TK 11 又長於較低感光性 TK 2，且此一效應愈接近光源愈加明顯。

夜間暗期光中斷處理對參試稻種生長影響之結果繪製於圖 2–4，分別為收穫時調查之株高、葉片數、葉面積及植體重量等生長性狀。由圖 2 所示，水銀燈光照對株高的伸長效應較低，僅一期稻作近光源 (≤ 2 m) 稻株有輕微促進，二期稻作則幾無作用。高壓鈉燈光照可增加一期稻作距離光源 4 m 以內稻株之株高，TK 11 稻株之伸長幅度大於 TK 2 稻株，而二期稻作亦無促進效果。此兩種光源處理在兩期稻作均可提高近光源 (≤ 4 m) 稻株之葉片數及葉面積，且 TK 11 大於 TK 2，然因各性狀增加比例不一而使得葉面積/葉片數比值有不同變化。

在植體各部位的重量方面，無論期作別，暗期光中斷可增進距離光源 4 m 以內兩稻種之稻株葉重及桿重，高壓鈉燈之促進效果又高於水銀燈 (圖 3–4)。穗重的表現呈現相反結果，光照將明顯降低 TK 11 收穫之稻穗重量，特別是距離光源 4 m 以內稻株具有較大差異，高壓鈉燈之抑制效果又高於水銀燈 (圖 3–4)。TK 2 有類似結果，而以高壓鈉燈光照差異較明顯 (圖 3–4)。

由產量性狀之分析 (圖 5)，發現暗期光中斷將會減少 TK 11 之 PET、PFG 及 1000-GW，在二期稻作水銀燈光照稻株之下降幅度高於高壓鈉燈光照稻株，且以小於 4 m 光源距離稻株受到的影響最大；而一期稻作產量性狀測值則以高壓鈉燈光照稻株下降較大，然對 1000-GW 的影響較小。TK 2 之產量性狀受到暗期光中斷處理的影響相對低於 TK 11，僅以距離 HPSL 光源 2 m 以內稻株受到較大的影響。進一步由收穫指數之試驗結果，可知 TK 11 因暗期光中斷造成 HI 降低，二期稻作以水銀燈光照稻株下降較大，一期稻作則以高壓鈉燈光照稻株較顯著。TK 2 之收穫指數亦因光照而減少，且均以高壓鈉燈光照稻株降低趨勢較大，尤以距離光源 4 m 以內稻株較明顯。

表 1. 暗期光中斷之不同光源與距離對台稉 11 號和台稉 2 號發育天數的影響

Table 1. Changes of developmental durations with distance from different light sources for rice (*Oryza sativa* L.) cultivars TK 11 and TK 2 grown in the second cropping season of 2007 and the first cropping season of 2008, respectively

Light source	Distance from light source (m)													
	Cultivar TK 2							Cultivar TK 11						
Growth duration	0.5	1	2	4	6	8	10	0.5	1	2	4	6	8	10
HPSL[z]														
2nd crop, 2007														
T-FH [y]	49	49	44	38	38	38	38	none [x]	none	none	52	51	42	42
FH-H	77	77	76	72	72	72	72	none	none	none	74	72	72	72
Total	126	126	120	114	114	114	114	none	none	none	126	123	114	114
1st crop, 2008														
T-FH	96	96	95	91	88	87	86	102	102	102	93	88	84	84
FH-H	38	38	37	37	37	37	37	45	45	45	41	38	37	37
Total	134	134	132	128	125	124	123	147	147	147	134	126	121	121
ML														
2nd crop, 2007														
T-FH	68	68	67	66	65	65	65	72	72	70	70	65	65	65
FH-H	54	54	53	47	49	49	49	54	54	50	44	44	44	44
Total	122	122	120	114	114	114	114	126	126	120	114	109	109	109
1st crop, 2008														
T-FH	91	91	91	91	88	87	87	85	85	85	85	81	81	81
FH-H	41	41	39	39	36	36	36	62	62	62	47	43	41	41
Total	132	132	130	130	124	123	123	147	147	147	132	124	122	122
CK (no light treatment)														
2nd crop, 2007														
T-FH[y]	65							62						
FH-H	49							43						
Total	114							109						
1st crop, 2008														
T-FH[y]	86							81						
FH-H	36							40						
Total	122							121						

[z] HPSL: high pressure sodium lamp; ML: mercury lamp; CK: no light treatment (mean value averaging from different distances).
[y] T-FH: duration from transplanting to 50% heading; FH-H: duration from 50% heading to harvest; Total: duration from transplanting to harvest.
[x] No heading occurred.

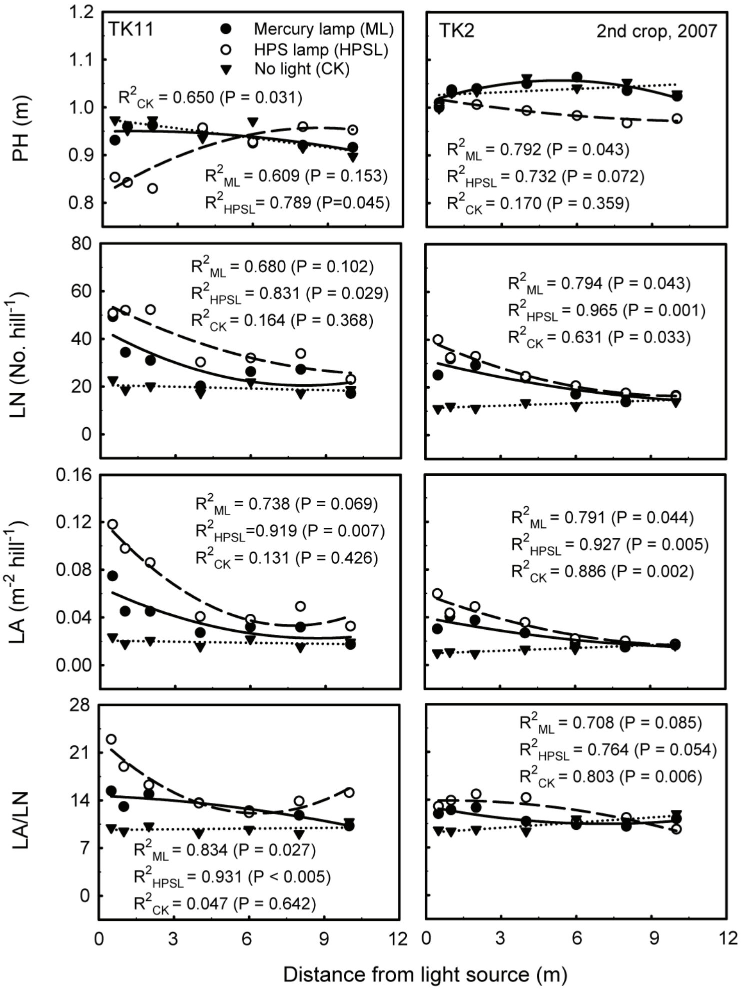


圖 2A. 2007 年二期作水稻台稉 11 號和台稉 2 號在夜間暗期光中斷處理之不同光源與距離下稻株收穫時植株高度 (PH)、葉片數 (LN)、葉面積及葉面積與葉片數比值 (LA/LN) 之分佈曲線圖。

Fig. 2A. Changes of plant height (PH), leaf number (LN), leaf area (LA) and LA/LN ratio at harvest with distance away from different light sources for rice (*Oryza sativa* L.) cultivars TK 11 and TK 2 grown in the second cropping season of 2007.

討　　論

本研究旨在探討夜間暗期光中斷對水稻生長、發育及產量之影響，乃利用高壓鈉燈、水銀燈及不照光 (CK) 等三種不同光源於近午夜時進行短期 (2 小時) 光照處理。由圖 1 在不等光源距離植被表面上方之量測結果，顯示高壓鈉燈及水銀燈兩種光源之光度及 PPFD 在田間隨著距離光源的遠近呈現二次曲線分佈，光輻射測值如預期隨著距離 (d) 平方倒數 ($1/d^2$) 比例快速的衰降。最近光源距離 (0.5 m) 之稻株植被上方高壓鈉燈之光度及 PPFD 可分別高達 225 lux 及 1.98 μmol m^{-2} s^{-1}，明顯高於水銀燈之光度及 PPFD 之最大值 112 lux 及 1.08 μmol m^{-2} s^{-1}，可見高壓鈉燈具有較強之光輻射值 (圖 1A、B)。而在相同的波長範圍

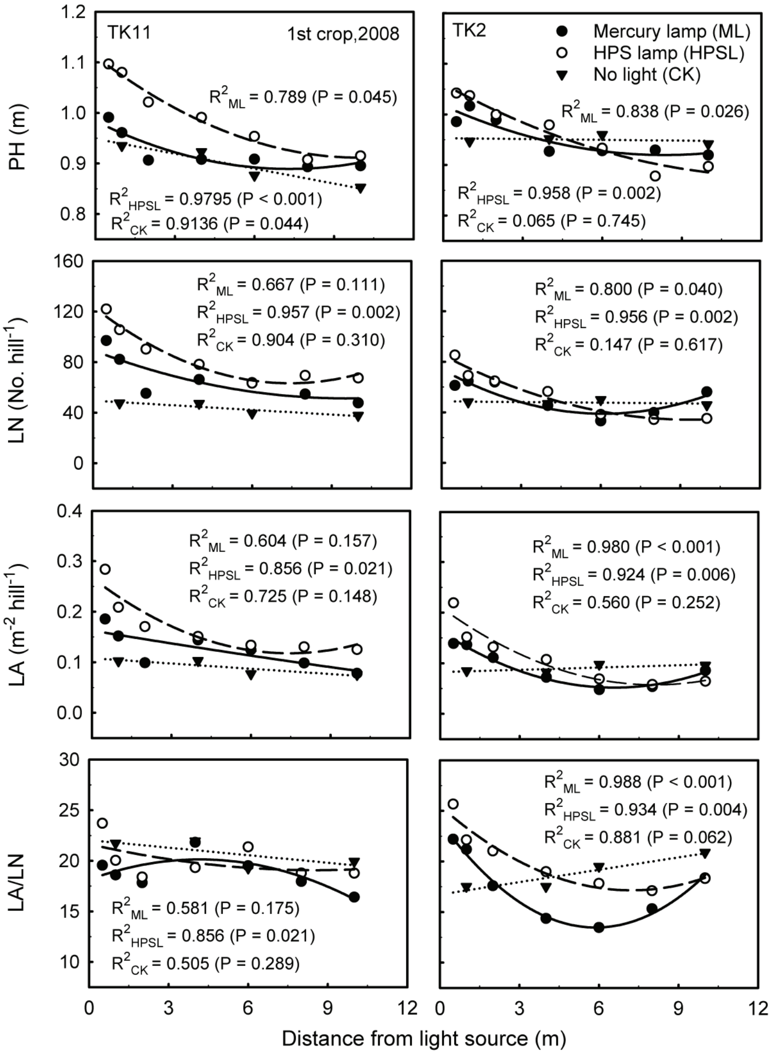


圖 2B. 2008 年一期作水稻台稉 11 號和台稉 2 號在夜間暗期光中斷處理之不同光源與距離下稻株收穫時植株高度 (PH)、葉片數 (LN)、葉面積及葉面積與葉片數比值 (LA/LN) 之分佈曲線圖。

Fig. 2B. Changes of plant height (PH), leaf number (LN), leaf area (LA) and LA/LN ratio at harvest with distance away from different light sources for rice (*Oryza sativa* L.) cultivars TK 11 and TK 2 grown in the first cropping season of 2008.

400–700 nm 下，光度與 PPFD 之測值呈現顯著的直線相關，且在相同 PPFD 測值下水銀燈之光度較高 (圖 1C、D)。由於高壓鈉燈具有較高之光輻射強度，而水銀燈則具有較高之光輻射亮度，可推知此兩種光源之光輻射質量並不相同，其等之暗期光中斷處理將對參試稻種產生不等影響。

試驗首先發現暗期光中斷將改變參試稻種發育之演進，使得生育進展異於常態表現 (表 1)，此兩種光源之夜間光照處理不僅將可能延

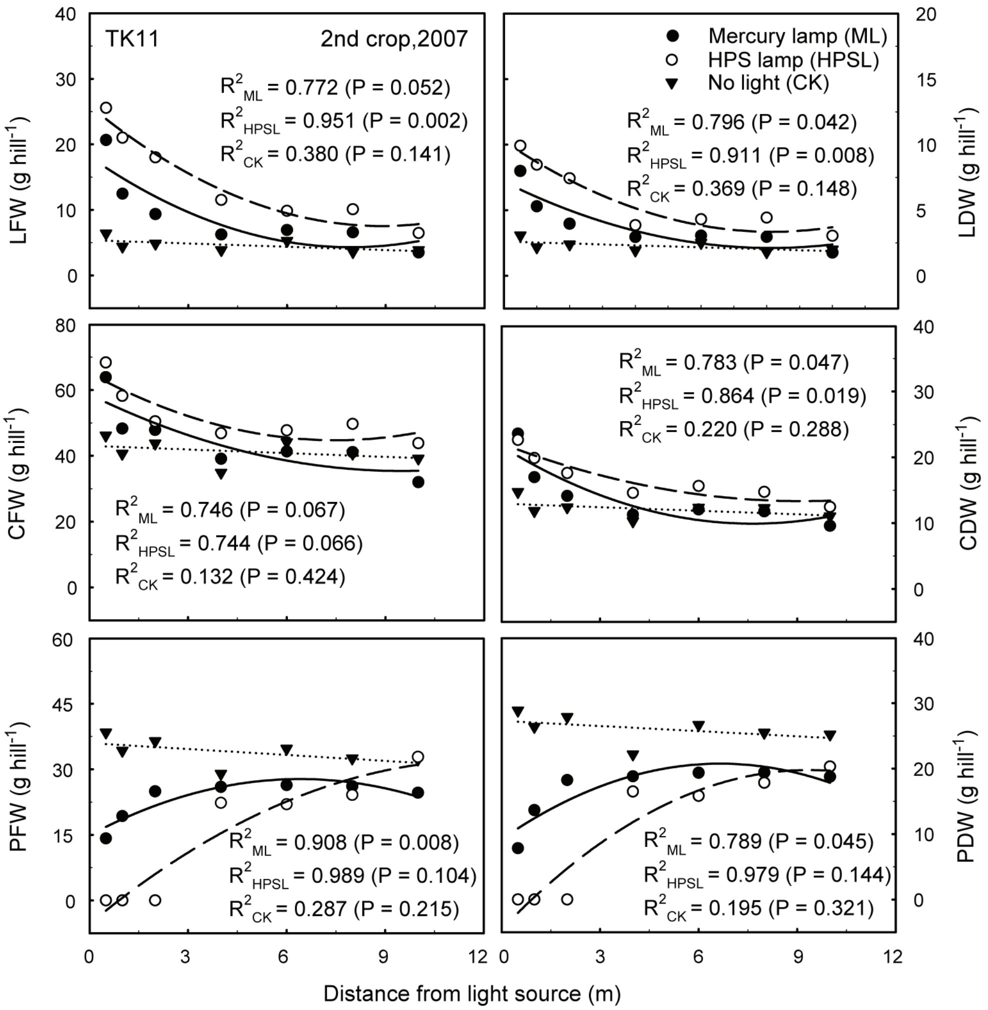


圖 3A. 2007 年二期作水稻台稉 11 號在夜間暗期光中斷處理之不同光源與距離下稻株收穫時葉片 (L)、桿 (C) 與穗 (P) 之鮮重 (FW) 及乾重 (DW) 分佈曲線圖。

Fig. 3A. Changes of fresh and dry weights of leaf (LFW and LDW), culm (CFW and CDW) and panicle (PFW and PDW) at harvest with distance away from different light sources for rice (*Oryza sativa* L.) cultivar TK 11 grown in the second cropping season of 2007.

長短日照型稻株抽穗期及收穫期，也將可能同時影響穗的形成與穀粒充實。由表 1 資料，稻株距離光源愈近則延長天數愈長，且較高感光性稻種 TK 11 延長之生育天數普遍大於較低感光性稻種 TK 2。雖然高壓鈉燈光照稻株延長生育天數多大於水銀燈光照稻株，但是不同生育階段之延長效應不一，顯示各生育階段的反應並不一致，且各光源的不同光質亦可能造成差異，尚待多年期試驗深入究明其原因。Chen *et al.* (2005) 在稉性型稻台稉 8 號及秈性型稻台農秈 20 號之全生育期全夜照明試驗，亦發現將會造成抽穗開花日期之延後 (長)，然而長日照

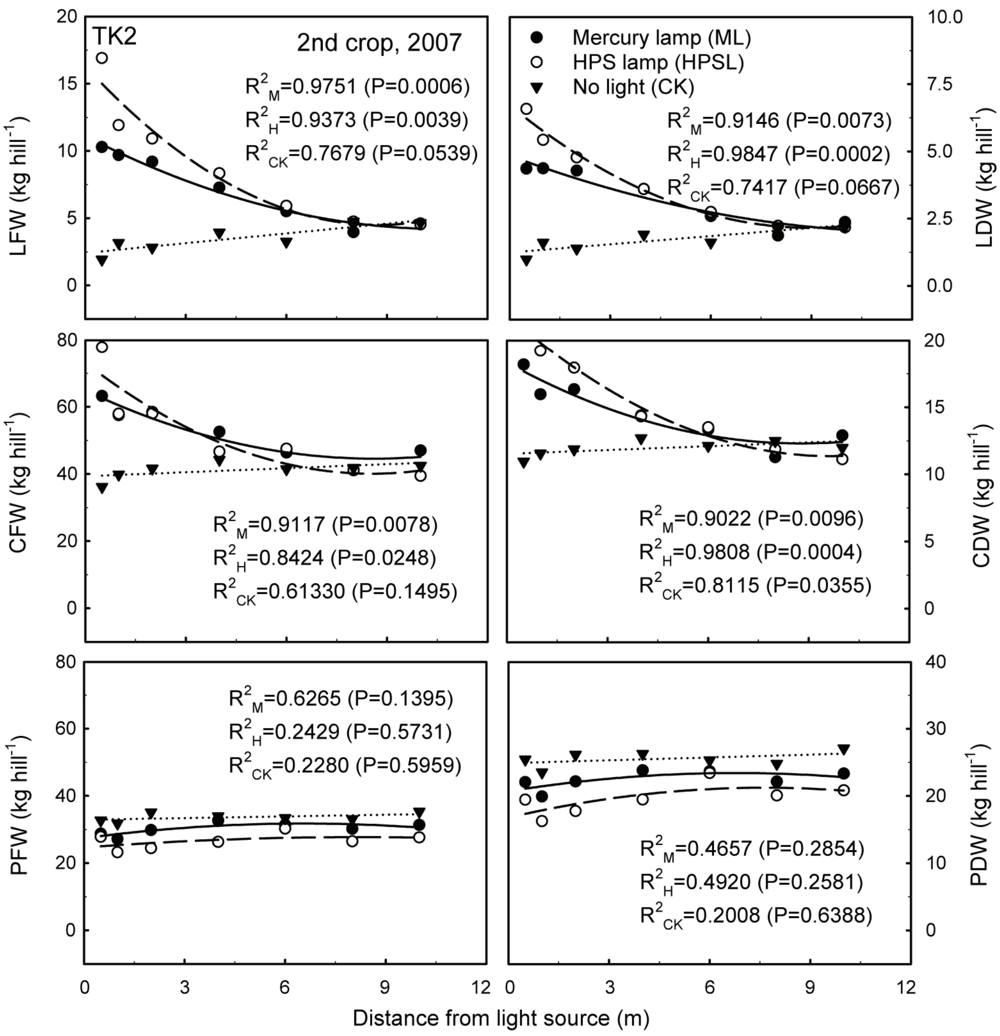


圖 3B. 2007 年二期作水稻台稉 2 號在夜間暗期光中斷處理之不同光源與距離下稻株收穫時葉片 (L)、桿 (C) 與穗 (P) 之鮮重 (FW) 及乾重 (DW) 分佈曲線圖。

Fig. 3B. Changes of fresh and dry weights of leaf (LFW and LDW), culm (CFW and CDW) and panicle (PFW and PDW) at harvest with distance away from different light sources for rice (*Oryza sativa* L.) cultivar TK 2 grown in the second cropping season of 2007.

型印度棗則促使提早開花。

關於夜間暗期光中斷對參試稻種生長之影響，由收穫時生長性狀之調查結果 (圖 2–4)，發現夜間額外的照明可能引起稻株異常生長，愈接近光源影響愈大，尤以距離光源 2 m 甚至於 4 m 以內的植株受到較大影響。大致言之，此兩稻種之株高在一期作有促進效果而二期作則無，高壓鈉燈光照株的伸長幅度大於水銀燈光照株，TK 11 稻株又大於 TK 2 稻株。同樣的，此兩種光源照射在兩期稻作均可提高近光源 (≤ 4 m) 稻株之葉片數及葉面積，且 TK 11 稻株測值大於 TK 2 稻株，然因為葉片數及葉面

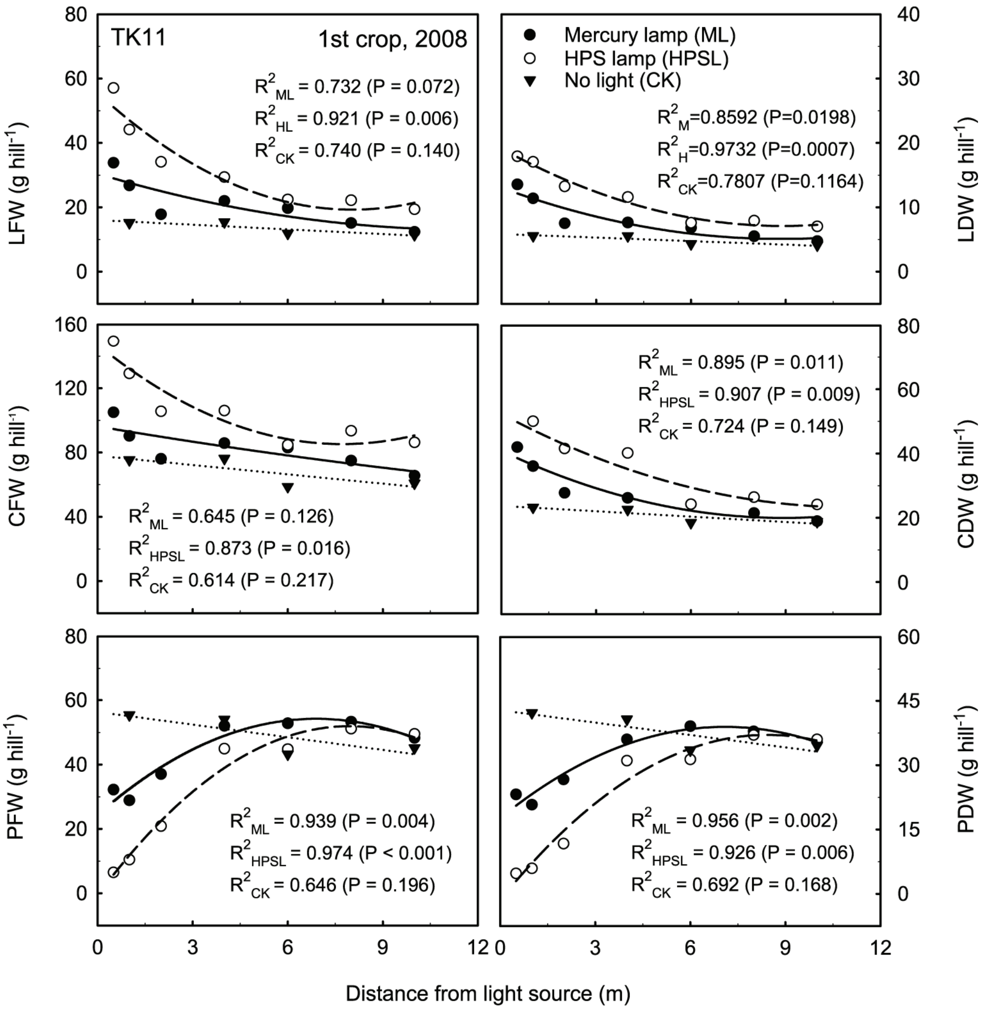


圖 4A. 2008 年一期作水稻台稉 11 號在夜間暗期光中斷處理之不同光源與距離下稻株收穫時葉片 (L)、桿 (C) 與穗 (P) 之鮮重 (FW) 及乾重 (DW) 分佈曲線圖。

Fig. 4A. Changes of fresh and dry weights of leaf (LFW and LDW), culm (CFW and CDW) and panicle (PFW and PDW) at harvest with distance away from different light sources for rice (*Oryza sativa* L.) cultivar TK 11 grown in the first cropping season of 2008.

積有不等增加比例而有不同的葉面積/葉片數比值。由此可見，暗期光中斷所提供的額外照明達到一定光輻射強度後，將會對參試稻種造成營養器官的擴大，使得葉片數及葉面積呈現增加現象，較高感光性稻種 (如 TK 11) 的促進作用似大於較低感光稻種 (如 TK 2)。其次，由兩期稻作植體各部位重量的調查 (圖 3A–4B)，也顯示暗期光中斷可增加稻株葉片及桿的生質量，仍以距離光源 4 m 以內之稻株表現較顯著，而且高壓鈉燈光照之增進效果大於水銀燈光照。除了前述營養器官的擴大，夜間額外照明尚可提高稻稈 (shoots) 生質量，顯然的提供夜間短期光輻射確實有助於稻株的營養生長，而且感光性較高稻種反應較敏銳。是否

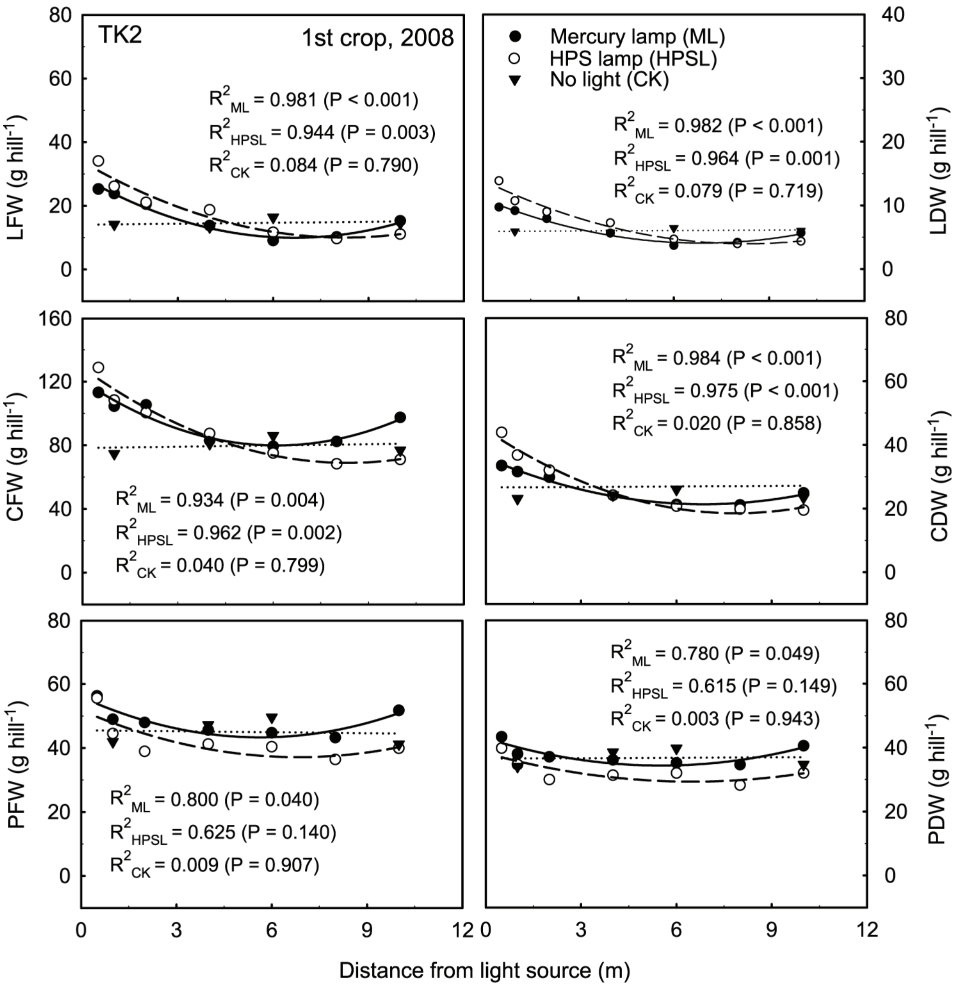


圖 4B. 2008 年一期作水稻台稉 2 號在夜間暗期光中斷處理之不同光源與距離下稻株收穫時葉片 (L)、桿 (C) 與穗 (P) 之鮮重 (FW) 及乾重 (DW) 分佈曲線圖。

Fig. 4B. Changes of fresh and dry weights of leaf (LFW and LDW), culm (CFW and CDW) and panicle (PFW and PDW) at harvest with distance away from different light sources for rice (*Oryza sativa* L.) cultivar TK 2 grown in the first cropping season of 2008.

因為夜間光照啟動了光合作用的進行，或者加速了次級產物的轉換而促進生長機制的運轉，則需要另行試驗究明。

由收穫時穗重之調查結果 (圖 3A–4B)，夜間光照將降低稻穗重量，顯示額外的夜間照明雖然促進稻株營養器官的生長，卻未必助益於穗的形成及穀粒的充實，而且較高感光性稻種 TK 11 之穗重下降幅度大於較低感光性稻種 TK 2。額外夜間照明的產物及生質量並未能傳送至穗部，貢獻於穀粒產量，而係存留於營養器官如桿、葉之中。因距離光源 4 m 以內稻株降幅較大，可推知光輻射強度的高低可能係造成差異的原因之一，稻種的感光性高低對夜間光照的反應可能與光輻射強度有關。總結這些

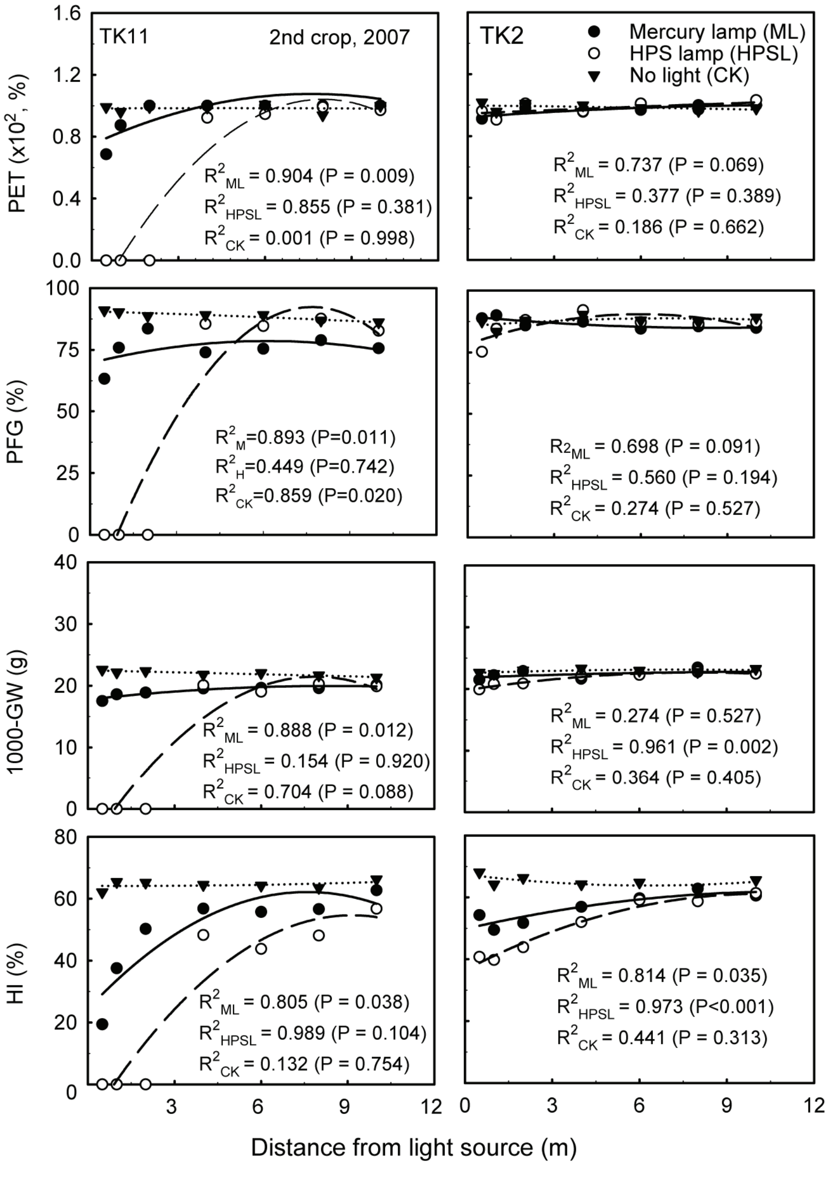


圖 5A. 2007 年二期作水稻台稉 11 號和台稉 2 號在夜間暗期光中斷處理之不同光源與距離下收穫時有效分蘗百分比 (PET)、稔實率 (PFG)、千粒重 (1000-GW) 及收穫指數 (HI) 之分佈曲線圖。

Fig. 5A. Changes of yield traits, i.e., percent effective tillers (PET), percent filled grains (PFG) and 1000 grains weight (1000-GW), and harvest index (HI) at harvest with distance away from different light sources for rice (*Oryza sativa* L.) cultivars TK 11 and TK 2 grown in the second cropping season of 2007.

試驗結果，顯見夜間暗期光中斷不僅縮短水稻的暗期需求而破壞正常的光週期作用，導致抽穗期往後延長或者稻穗無法抽出 (見圖 3A，TK 11 之 2007 年二期作光源距離 2 m 以內無穗重)，又僅促進稻株的生長而未利於穀粒的充實 (見圖 3A–4B)，使得收穫期延長並減輕穗重，

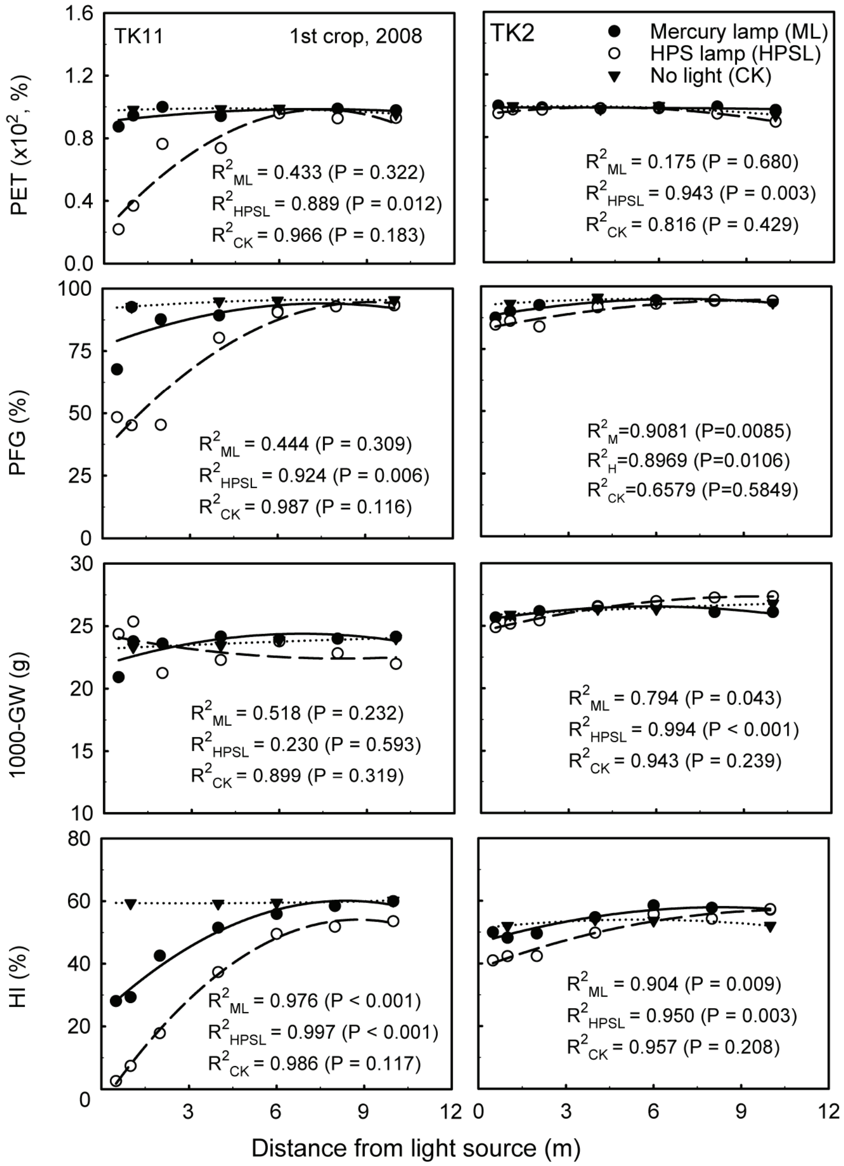


圖 5B. 2008 年一期作水稻台稉 11 號和台稉 2 號在夜間暗期光中斷處理之不同光源與距離下收穫時有效分蘖百分比 (PET)、稔實率 (PFG)、千粒重 (1000-GW) 及收穫指數 (HI) 之分佈曲線圖。

Fig. 5B. Changes of yield traits, i.e., percent effective tillers (PET), percent filled grains (PFG) and 1000 grains weight (1000-GW), and harvest index (HI) at harvest with distance away from different light sources for rice (*Oryza sativa* L.) cultivars TK 11 and TK 2 grown in the first cropping season of 2008.

此一現象以較高感光性稻種受到的影響較為嚴重。此外，無論期作或稻種，高壓鈉燈光照稻株受到抑制的程度高於水銀燈光照稻株，再次顯示夜間額外照明之負面因素至少包括光輻射強度，因此具有較強光輻射之高壓鈉燈光源促使穗重大幅下降甚至無法抽穗及完全充實。由

於穗重 (穀粒重) 降低而植體桿重與葉重卻增加，因此夜間光中斷的額外照明會減少收穫指數。

Vergara & Chang (1985) 之研究指出，短日型植物的水稻從秧苗至幼穗分化之前似乎對光週期的變化無靈敏感應，此一時期的長短視稻種的成熟期 (maturity) 而異，一般早熟 (early maturity) 稻種較短而晚熟 (late maturity) 稻種較長。直至光週期誘導期 (inductive phase)，稻株才開始對於光週期變化呈現敏感現象 (Roberts & Summerfield 1987; Yin *et al.* 1997)，促使幼穗及花芽形成，此時暗期長短及暗期光中斷將明顯影響幼穗分化及抽穗日期。據此推測在光週期誘導期之前的夜間光照，可能因為增加額外光合作用而使得營養生長較為旺盛，進而促進稻株之株高與營養器官擴大，一如 Chen *et al.* (2005) 之類似試驗結果。至於生長性狀的表現差異，除了稻種的遺傳基因 (如感光性) 控制之外，光輻射強度的高低亦會造成不等促進效果，通常愈靠近光源的稻株可接受較高光照而獲得較旺盛的生長，使得葉片數、葉面積及稻稈 (葉 + 桿) 重量明顯增加。

但是，暗期光中斷及帶來的額外夜間照明卻不利於稻株的生殖生長並干擾抽穗開花習性，本試驗選用之較高感光性稻種 TK 11 在 2007 年二期稻作近光源稻株甚至無法抽穗，2008 年一期稻作的穗重產量) 亦甚低 (圖 3A、4A)。經比較所調查之產量性狀，由於穗數的減少而使得有效分蘗百分比下降，較少的充實粒數而降低稔實率，以及較輕粒重而減低千粒重，也因此得到較差的收穫指數 (圖 5A、5B)。值得注意的是臨近高壓鈉燈光源 (≤ 2 m) 的 TK 11 稻株，接受僅約 1.4 μmole m^{-2} s^{-1} (光度約 160 lux) 的光輻射強度竟然在本試驗的二期稻作環境中無法抽穗，在一期稻作環境亦僅獲得甚低穗重，可見高感光性稻種 (如 TK 11) 對微弱光照十分的敏感。相對的，較低感光性稻種 (如 TK 2) 則無此敏銳反應，穗重降低比例較少 (圖 3B、4B)。因此，在有夜間光照干擾的農耕地種植水稻時，宜慎選低感光性的品種以減輕低產量損失。Huang (2006) 在國道三號旁農田進行的夜間連續光照試驗中發現，長期夜間光照將降低感光性稻種台農 71 號兩期稻作之產量，距離光源愈近則減產幅度愈大。其試驗結果也指出，減產主因在於每叢穗數、稔實率的減少，惟株高、生育天數及穗長均有增加。

結　　論

綜合本試驗結果分析，夜間暗期 2 小時之光中斷將對不同感光性稻種造成不等程度的生育影響，雖然營養生長將受到促進，生殖生長卻產生不利後果。此一暗期光中斷效應隨著光輻射強度的上升而增強，不同光質的作用亦顯示出差異性反應，然仍需要更多的試驗來深入解明。由於稻種之間存在不同的感光性，夜間照明的長短或明暗的交替都可能產生各種結果，造成對生長、發育及產量甚至是米質的不等影響，亟需要吾人更進一步的研究探討予以釐清，如此才能助益於未來的實際應用。單從本研究之試驗結果建議，在有夜間光害疑慮的農耕地，務必選用低感光性作物或品種，抑或遠離光源至一定距離以上，以避免生育干擾及產量損失。

引用文獻 (Literature cited)

Angrish, R. 1998. Photoperiodic characteristics of basmati rice. Indian J. Plant Physiol. 3:77–81.

Best, R. 1959. Photoperiodism in rice. Field Crop Abs. 12:85–93.

Chandraratna, M. F. 1954. Photoperiod response in rice (*Oryza sativa* L.). I. Effects on inflorescence initiation and emergence. New Phytol. 53:397–405.

Chang, T. Y. and Y. A. Liou. 2005. Using LANDSAT data-derived air temperature to quantify the

magnitude of urban heat island effect. J. Photogram. Remote Sens. 10:385–392. (in Chinese with English abstract)

Chen, Y. M., H. C. Wu, T. B. Huang, C. P. Liu, and T. M. Shen. 2005. Effects of all night lighting on the growth of rice (*Oryza sativa*), water caltrops (*Trapa natans*) and Indian jujube (*Zizyphus mauritana*). Crop Environ. Bioinform. 2:182–192. (in Chinese with English abstract)

Chiou, C. Y. 1992. Effects of days of lighting enhancement during the night on the yielding date and fruit quality of Indian jujube. Res. Bull. Kaohsiung Dist. Agric. Res. Ext. Stn. 4:1–9. (in Chinese with English abstract)

Chiou, C. Y. and M. T. Huang. 1994. Effects of lighting during the night on the flowering and yield date of Indian jujube (*Zizyphus mauritiana* Lam.). Chin. J. Agromet. 1:115–120.

Chiou, C. Y. and J. H. Weng. 1996. Effects of night interruption on flowering and yielding date of Indian jujube (*Zizyphus mauritiana* Lam.). Chin. J. Agromet. 3:121–124. (in Chinese with English abstract)

Chiou, C. Y. and J. H. Weng. 2003. Effects of interrupted nocturnal lighting on the growth and development of Indian jujube (*Ziziphus mauritiana* Lam.). Res. Bull. Kaohsiung Dist. Agric. Res. Ext. Stn. 14:1–9. (in Chinese with English abstract)

Collinson, S. T., R. H. Ellis, R. J. Summerfield, and E. H. Roberts. 1992. Durations of the photoperiod-sensitive and photoperiod-insensitive phases of development to flowering in four cultivars of rice (*Oryza sativa* L.) Ann. Bot. 70:339–346.

Cotton, W. R. and R. A. Pielke. 1996. Human Impacts on Weather and Climate. University Press. Cambridge, UK. 288 pp.

Diplock, A. T., J. L. Charleux, G. Crozier-Willi, F. J. Kok, C. Rice-Evans, M. Roberfroid, W. Stahl, and J. Vina-Ribes. 1998. Functional food science and defense against reactive oxidative species. British J. Nutr. 80 (Suppl. 1):S77–S112.

Evans, L. T., R. M. Visperas, and B. S. Vergara. 1984. Morphological and physiological changes among rice varieties used in the Philippines over the last seventy years. Field Crops Res. 8:105–124.

Fosket, D. E. 1994. Plant Growth and Development, a Molecular Approach. Academic Press, San Diego, USA. 580 pp.

Gutterman, Y. and D. Porath. 1975. Influences of photoperiodism and light treatments during fruits storage on the phytochrome and on the germination of *Cucumis prophetarum* L. and *Cucumis sativus* L. seeds. Oecologia 18:37–43.

Huang, M. C. and C. Y. Chu. 1984. A design of standard light intensity for the control of flowering *Chrysanthemum*. NCGU Hort. 9:45–49. (in Chinese with English abstract)

Huang, M. C. 2006. Effect of all Night Lighting on the Yield and Quality of Rice. Master Thesis. Graduate Institute of Agronomy National Chung Hsing University, Taichung, Taiwan, ROC. 55 pp. (in Chinese with English abstract)

International Panel on Climate Chang (IPCC). 2001. Climate Change 2001. The Scientific Basis. The Intergovernmental Panel on Climate Change. University Press. Cambridge, UK. 881 pp.

Izawa, T., T. Oikawa, N. Sugiyama, T. Tanisaka, M. Yano, and K. Shimamoto. 2002. Phytochrome mediates the external light signal to repress *FT* orthologs in photoperiodic flowering of rice. Genes Dev. 16: 2006–2020.

Kendrick, R. E. and G. H. M. Kronenberg. 1993. Photomorphogenesis in Plants. Kluwer Academic. The Netherlands. 828 pp.

Madigan, M. T., J. M. Martinko., P. V. Dunlap, and D. P. Clark. 2008. Brock Biology of Microorganisms. 12th ed. Benjamin Cummings/Prentice Hall. San Francisco. 1168 pp.

Mattson, N. S. and J. E. Erwin. 2005. The impact of photoperiod and irradiance on flowering of several herbaceous ornamentals. Sci. Hort. 104:275–292.

Mizon, B. 2002. Light Pollution: Responses and Remedies. Springer-Verlag. London. 216 pp.

Nomani, Z. M. 2004. Legal Control of Radiation Pollution. Regency Pub. India. 328 pp.

Roberts, E. H. and R. J. Summerfield. 1987. Measurement and prediction of flowering in annual crops. p.17–50. *in*: Manipulation of Flowering. (Atherton, J. G.,ed.) Butterworths. London.

Tesar, M. B. 1984. Physiological Basis of Crop Growth and Development. American Society of Agronomy/ Crop Science Society of America. Madison, Wisconsin, USA. 341 pp.

Thomas, B. and D. Vince-Prue. 1996. Photoperiodism in Plants. 2nd ed. Academic Press. New York. 428 pp.

Thomas, B. 2006. Phytochrome and photoperiodic induction. Physiol. Plant. 81:572–577.

Vergara, B. S. and T. T. Chang. 1985. The Flowering Response of the Rice Plant to Photoperiod. 4th ed. IRRI. Los Banos, Philippines. 61 pp.

Yeh, K. C. and M. C. Huang. 1979. Effects of re-illumination on the improvement of cutting flower quality of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. NCHU Hort. 4:27–36. (in Chinese with English abstract)

Yin, X. and M. J. Kropff. 1996. Use of the Beta function to quantify effects of photoperiod on flowering and leaf number in rice. Agric. For. Meteorol. 81: 217–228.

Yin, X. and M. J. Kropff. 1998. The effect of photoperiod on interval between panicle initiation and flowering in rice. Field Crops Res. 57:301–307.

Yin, X., M. J. Kropff and M. A. Ynalvez. 1997. Photoperiodically sensitive and insensitive phase of preflowering development in rice. Crop Sci. 37: 182–190.

Effects of Short-term Night Interruption on the Growth, Development, and Yield of Rice [1]

Yuh-Jyuan Lee[2], Chwen-Ming Yang[2,3], and Chiao-Ling Hsiao[2]

Abstract

Lee, Y. J., C. M. Yang, and C. L. Hsiao. 2010. Effects of short-term night interruption on the growth, development, and yield of rice. J. Taiwan Agric. Res. 59:1–18.

Field experiments were conducted in the experimental farm of Taiwan Agricultural Research Institute to study the effects of short-term (2 h in-between 23:30 and 01:30) night interruption, using high pressure sodium lamp (HPSL) and mercury lamp (ML) as light sources with no light treatment (CK) in comparison, on the growth, development and yield of rice (*Oryza sativa* L.). Cultivars of varied photo-sensitivities, higher sensitive TK 11 relative to lower sensitive TK 2, were selected to grow in the second crop of 2007 and the first crop of 2008. From the distribution curves of light intensity and photosynthetic photon flux density (PPFD) with distance away from light sources, radiation values of HPSL were higher than that of ML at the same distance and the decrease of radiation with distance obeyed the general inverse square law. As the results indicated, short-term night interruption affected plant development and growth duration. Light interruption in the dark period extended the days required from transplanting to 50% heading and from 50% heading to harvest, and the effects were stronger when plants were more closed to the light sources. Night interruption also affected plant growth of both cultivars. At harvest, plant height was increased by lighting in plants within 4 m from light sources in the first crop, but not in the second crop, especially under HPSL. Leaf number and leaf area were improved in plants within the distance of less than 4 m in both crops and the increments were larger in TK 11 than in TK 2. Similar results were found in weights of leaves and culms and HPSL treatment had a better improvement. However, night interruption decreased panicle weights of these two cultivars at harvest, particularly in plants of TK 11 within 4 m distance of light sources. The inhibition effect was more pronounced under HPSL. From the analyses of yield components, lighting imposed negative impacts on percent effective tillers, percent filled grains, and 1000-grain weight in both cropping seasons. Plants of TK 11 within 4 m and plants of TK 2 within 2 m, though with less scale, were the range most affected in both crops. Due to an increase of vegetative tissues while a decrease of reproductive tissues, harvest index of two tested cultivars was declined by night interruption, particular within 4 m away from light sources.

Key words: Dark period light interruption, Night interruption, Photo-sensitivity, Rice, Growth, Production.

---

1. Contribution No.2383 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: December 3, 2009.
2. Respectively, Assistant Researcher, Researcher, and Assistant Researcher, Crop Science Division, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Corresponding author, e-mail: cmyang@tari.gov.tw; Fax: (04)23317118.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 59(1):19–28 (2010)

堆肥室內發酵與傳統發酵對洋菇產量之影響 [1]

陳錦桐[2,4] 彭金騰[2] 陳美杏[2] 簡宣裕[3]

摘　要

陳錦桐、彭金騰、陳美杏、簡宣裕。2010。堆肥室內發酵與傳統發酵對洋菇產量之影響。台灣農業研究 59:19–28。

比較利用隧道式 (tunnel) 發酵設備室內發酵法與戶外堆積進行第一期高溫發酵 (傳統方法) 所製作之堆肥，在成份、製作時間及對洋菇產量之影響，結果發現，二種方法製作之堆肥在成份上無明顯差異；在堆肥碳氮比 (C/N)，室內發酵與傳統發酵堆肥皆為 19.0；在堆肥製作時間，室內發酵法只需 18 天，而傳統發酵方法則需 30 天以上才能製作完成。以此二種堆肥栽培洋菇，結果顯示以室內發酵堆肥栽培洋菇 MS 與 F4KN 二品系之產量，分別比用傳統發酵堆肥栽培者高出 10.8%和 29.6% ($P < 0.05$)。本研究證實堆肥室內發酵法確實可應用在洋菇之栽培，不僅具有縮短堆肥製作時間，且可生產較高品質之堆肥亦有助於洋菇產量提高。

關鍵詞：室內發酵、堆肥、洋菇、產量。

前　言

洋菇 [*Agaricus bisporus* (Lange) Imbach.]，台語俗稱松茸，屬於真菌界 (Fungi)、擔子菌門 (Basidiomycota)、傘菌科 (Agariceae) 的腐生性可食用真菌。臺灣自公元 1963 年起實施洋菇產銷計畫，至 1990 年止，以洋菇罐頭外銷賺取外匯金額達 14 億美元以上，對當時的外匯缺乏之臺灣工業及農村經濟之繁榮貢獻至鉅 (Peng 1995)。目前國內洋菇主要以鮮銷為主，新鮮洋菇國內每年消費量均達到 2000 t 以上，同時，因其特性具有易腐不耐儲運之特性，在加入世貿組織 (WTO) 後，國外新鮮洋菇不易進口，因此，國內新鮮洋菇仍具有市場競爭力，為國內重要的栽培菇類之一。栽培洋菇之主要基質為堆肥，堆肥調製之好壞，對洋菇子實體之形成與品質有直接影響。堆肥的製作過程主要分成兩個階段 (Peng 1995; Laborde 1991)，第一階段為前發酵，包括稻草加水預濕，混合雞糞及肥料後堆積，在堆積的過程中經微生物的作用而使溫度升高至 70℃以上，使稻草軟化及初步分解；第二階段為後發酵，傳統方法則在出菇室內進行，將堆肥堆積成 30–40 cm 厚的薄層，溫度保持在 45–58℃之間，其中包括一個重要低溫殺菌 (pasteurization) 過程，使堆肥溫度保持在 58℃以上至少 6 小時，以殺死在堆肥中的

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2392 號。接受日期：99 年 1 月 22 日。
2. 本所植物病理組助理研究員、顧問、助理研究員。台灣 台中縣 霧峰鄉。
3. 本所農業化學組研究員。台灣 台中縣 霧峰鄉。
4. 通訊作者，電子郵件：jtchen@ tari.gov.tw；傳真：(04)23302803。

有害生物，包括洋菇病原、雜菌及害蟲等等 (Peng 1995; Laborde 1991)。傳統方法在製作堆肥時，草桿添加有機營養物混合堆積在戶外進行發酵，會產生惡臭之含硫化合物揮發性氣體 (Derikx *et al.* 1990; Derikx *et al.* 1991; Gerrits 1994)，造成鄰近地區之空氣污染，破壞居住生活品質。因此，在歐洲如荷蘭等國家已立法禁止洋菇堆肥在戶外進行發酵，必須移入室內進行 (Gerrits *et al.* 1995)。傳統堆肥製作過程需耗時 30 天以上才能完成，因此，許多學者致力於簡化堆肥製作的流程，期能減少乾物質之損失與提高產量，有效降低生產成本。目前國內的菇農在製作堆肥時仍以傳統戶外堆積方式居多，僅有少數幾家引進隧道式發酵槽進行第一階段的發酵。因此，本研究之目的在於比較室內發酵法與傳統方法製作之堆肥所需之時間、品質成份及對洋菇產量之影響，進而開發稻草洋菇堆肥室內發酵技術，提高堆肥品質與洋菇產量，降低洋菇生產成本及減少環境污染，祈對台灣洋菇產業有所幫助。

材料與方法

供試菌系

本研究所用之二個洋菇品系，為本所由國外所引進之 MS 及 F4KN 二品系，定期以堆肥洋菜培養基 [堆肥抽出物 1 L (乾洋菇堆肥 25 g、碎玉米 100 g 及蒸餾水 1 L)、洋菜 20 g] 更新培養，並於液態氮中保存。

洋菇麥粒菌種的製備

將小麥先以清水洗淨置於冷水中煮沸，經 2 分鐘後，濾除水分，並添加 1% 之碳酸鈣，冷卻後裝入四角瓶 (6.3 cm × 3.5 cm × 15 cm) 內塞好棉塞，放入高溫高壓蒸氣鍋 (Channel, 121℃, 1.2 kg/cm^2，台灣)，滅菌 1 小時，待冷卻後再將上述所培養之洋菇菌種接種至四角瓶中，置於室溫 25℃培養 15 天後，菌絲長滿即為麥粒菌種。

稻草堆肥製作

傳統戶外堆積發酵 (Conventional composting)：將 2000 kg 風乾稻草，切成 1 吋長，加水浸濕，假堆積使其軟化，4 天後添加雞糞 400 kg、硫酸銨 40 kg、過磷酸鈣 60 kg、碳酸鈣 40 kg、石膏 100 kg、黃豆粉 20 kg 及米糠 80 kg，以翻堆機充分混合並適量補充水分達含水量約 65%後，堆成 2 堆，400 cm × 100 cm × 120 cm，小堆中間不留空隙。每日給予適量補水，每隔 3 天，以翻堆機將稻草原地翻鬆混合後再如上述方法堆積，共 5 次，期間取樣測量含水量及成份變化。

室內高溫期發酵 (Indoor composting phase I)：將 4000 kg 風乾稻草，切成 1 吋長，加水浸濕，假堆積使其軟化，4 天後添加雞糞 800 kg、硫酸銨 80 kg、過磷酸鈣 120 kg、碳酸鈣 80 kg、石膏 200 kg、黃豆粉 40 kg 及米糠 160 kg，利用翻堆機充分混合並適量補充水分後，移入隧道式發酵室 (770 cm × 270 cm × 400 cm) 內，均勻堆積，堆積高度為 150–200 cm，並於堆肥之前、中、後，及回風處，分別插入溫度偵測棒，入庫後關閉發酵室門，啟動鼓風機 (5 HP，出風量 90.56 m^3/min，鑫國)，以外氣風門配合定時器 (Mitsuki, Japan) 控制通氣，外氣之控制設定為開啟 15 分鐘、關閉 45 分鐘，當堆肥溫度達 70–75℃維持 2 天，再移出堆肥，在堆肥製作過程中以氧氣偵測器 (GD-F4A-SC, Rikn Keiki Co., Japan) 偵測發酵中堆肥內部氧氣含量。

堆肥室內後發酵：隧道式高溫期發酵之堆肥移出後，添加 5% (v/v) 前次已發酵良好無雜菌污染之稻草堆肥，經翻堆機混合均勻後，移入隧道式發酵室內，同時將戶外堆積發酵翻堆 4 次之堆肥夾入同一隧道式發酵槽內，一齊進行後發酵，並以塑膠網將兩處理隔開，堆積高度 150–200 cm，關閉發酵槽門，啟動鼓風機，堆肥經由微生物分解有機物產生熱能會逐漸升

高堆肥溫度，利用外氣風門之開關控制溫度在50℃，2 天後逐漸將溫度設定提高為 58–60℃，當堆肥溫度達 58℃以上時，計算 6 小時之低溫殺菌。之後堆肥溫度降為 52℃，維持 1 天後再調為 48–50℃，3 天後再調降至 40–48℃，3 天後檢視堆肥，以氨氣檢測棒 (GASTEC, Japan) 偵測氨氣含量，待氨氣量低於 10 ppm，再降溫至 28℃，次日即可移出堆肥下種。

發酵過程的含水量、有機質及成份含量之分析

逢機取樣分析堆肥製作原料 (表 1) 及發酵過程每一階段之含水量和酸鹼值，同時分析堆肥之化學成份：樣品以濕化法 (Nelson 1982) 測定全有機碳含量，以濃硫酸及催化劑分解後，用擴散法測定全氮含量 (Huang 1998)。樣品以硝酸與過氯酸分解 (Huang 1998) 後，用感應耦合電漿儀 (JY50P ICP-AES, Jobin-Yvon Co., France) 測定全磷、鉀及微量元素含量。

洋菇下種、走菌、覆土及出菇管理

將上述二種方法完成之堆肥分別秤重裝入透明塑膠袋 (30 kg 裝) 中，每袋 15 kg，分別均勻混合洋菇 MS 及 F4KN 二品系之麥粒菌種，以人工均勻撒播在堆肥層上，菌種量為每袋 600 g，5 袋為一重複，各 8 個重複，採完全逢機區集設計 (completely randomized design, CRD)。下種後，移入環控菇舍，溫度控制在25℃，相對溼度 95%，二氧化碳濃度 4500 ppm。下種 2 週後，洋菇菌絲長滿堆肥，覆上厚度 5 cm 之泥碳土 (HECO No.1, Canada, pH 調整為 7.5)，覆土後 8 天，當覆土表面 80%面積以上長滿菌絲時，進行扒土 (將覆土層全部泥碳土含菌絲一起打散混合均勻，再平鋪於堆肥上)，再經 2 天，使菌絲恢復生長，增加灑水量，同時大量通風換氣，降低堆肥溫度及二氧化碳濃度，溫度控制在 18℃，二氧化碳濃度設定為 1000 ppm，隔天再降溫為 16℃，二氧化碳為 800 ppm，以促進出菇。

洋菇出菇特性調查與週期管理

由覆土至出菇約 24 天左右，在洋菇長出至未開菌傘前，以手扭轉採下，避免干擾周圍成長中之菇體，將菇腳含土部分切除後秤重，調查每袋洋菇產量、生物效率及從覆土至出菇所需天數等。每週期洋菇採收結束後，菇床進行補土及補充水分。以上試驗重複 2 次。

生物效率之計算與統計分析

生物效率 (%) ＝ 採收菇體之鮮重 (去腳) ÷ 下種時之栽培基質之乾重 × 100

實驗結果利用 SPSS 13.0 統計分析軟體 (SPSS Inc., 2004) 進行變方分析 (ANOVA)，以 α ＝ 0.05 之顯著水準達顯著者，再進行最小顯著差異性測驗 (LSD test) 探討各處理平均值之間的差異。

表 1. 堆肥製作原料成份表

Table 1. Ingredient of compost materials

Material	Nitrogen (%)	Phosphorous (%)	Potassium (%)	Electrical conductivity (mS/cm) (1:5, w:v)	Water content (%)	pH value (1:5, w:v)
Rice straw	1.4	0.2	2.2	3.2	11.9	7.5
Chicken manure	4.3	3.1	2.8	13.1	11.2	7.7
Soybean powder	8.6	1.6	2.2	3.2	10.8	6.3
Rice bran	2.7	2.3	1.6	1.5	8.4	6.6
Wheat bran	3.6	0.9	0.9	1.3	9.2	5.9

結 果

傳統戶外堆積發酵

混合稻草與雞糞等材料後，在戶外堆積發酵，在堆積 1 天後堆肥中心溫度已達 53℃，但是愈靠近堆肥外圍溫度愈低，高低溫差距達 25℃左右，在第 3 天時堆肥中心溫度可達 63℃，經幾次翻堆後，堆肥體積明顯縮小，且翻堆時有惡臭產生。

室內堆肥二階段發酵模式

在第一階段室內高溫發酵期，堆肥在混合營養添加物後入庫時溫度已達 50℃左右高溫，在發酵槽內 1 天後僅以微生物作用就可使堆肥的溫度上升至 70–75℃之高溫 (圖 1)，高溫有助於稻草草桿基質之初步分解。在第 2 階段後發酵過程中，以外氣控制堆肥溫度，保持在 45–52℃ (圖 2)，在入發酵槽後第 3 至第 4 天升溫至 58–63℃，維持 6 小時低溫巴士德滅菌，仍不需外加蒸氣即可完成，整個發酵過程堆肥溫度的調整是藉由適時的引入外氣，由氧氣偵測值得知堆肥處於好氣性狀態，且發現堆肥偵測各點溫度很相近。

室內發酵與傳統戶外發酵製作之堆肥成份比較

二種發酵方式之堆肥，在外觀上並無法區分，在成份上，二者在氮、磷、鉀、及鈣等元素的含量上無明顯差異，在電導度上，室內發酵的堆肥，其電導度為 3.0 mS/cm，戶外堆積發酵堆肥僅有 1.7 mS/cm；其他元素如鈣、鎂、鐵與銅離子含量上，在二種堆肥完成後有上升趨勢，而在錳離子含量上則略為下降，在 C/N 比上，室內發酵堆肥與戶外堆積發酵堆肥皆為

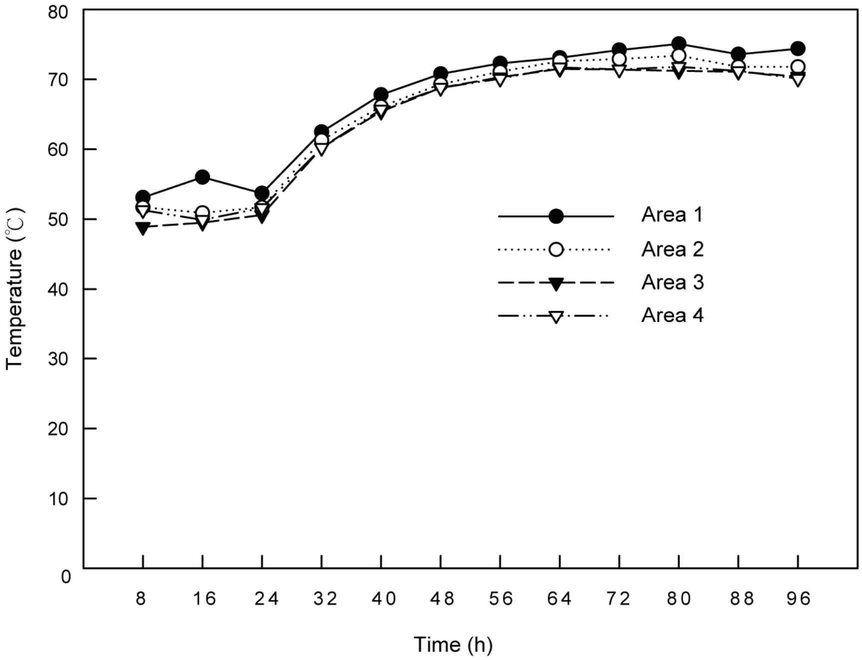


圖 1. 洋菇稻草堆肥室內發酵第一階段溫度變化情形。

Fig. 1. Changes in temperature of compost during indoor composting phase I.

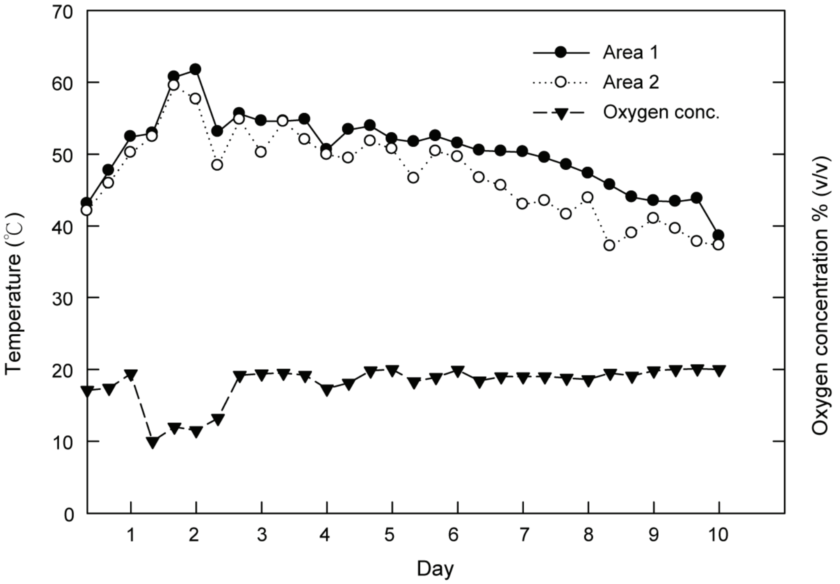


圖 2. 洋菇稻草堆肥室內發酵第二階段溫度與氧氣變化情形。

Fig. 2. Changes in temperature and oxygen concentration of compost during indoor composting phase II.

19.0 (表 2)。有機質含量上，室內發酵堆肥含量由 76%下降至 66%，而戶外堆積發酵堆肥降為 64%。在發酵過程乾物質損失比例，室內發酵堆肥為 36%，而戶外堆積發酵堆肥為 45%。

室內發酵與傳統戶外發酵製作之堆肥對洋菇產量之影響

在栽培洋菇產量方面，MS 品系以室內發酵堆肥栽培 5 週期，每袋產量可達 4.6 kg，顯著高於傳統戶外堆積發酵堆肥栽培之 4.2 kg；F4KN 品系以室內發酵之堆肥栽培 5 週期產量為 4.7 kg，也顯著高於傳統戶外堆積發酵堆肥栽培之 3.6 kg；在生物效率比較上，MS 品系以室內發酵堆肥栽培，其生物效率達 114%高於傳統發酵堆肥之生物效率 105% (表 3)，而以室內發酵堆肥與傳統戶外發酵堆肥栽培 F4KN 品系之生物效率分別為 115%與 90%，也具顯著性差異。覆土至出菇採收所需天數則以 F4KN 品系較快，二種堆肥對其覆土至出菇所需天數則無差異。

室內發酵與傳統戶外發酵之堆肥栽培洋菇對週期產量表現上之影響

調查洋菇生產子實體 5 週期，結果發現不論是室內發酵或戶外堆積發酵之堆肥，在二個洋菇品系的出菇週期表現上，均呈現第 1 週期產量最高，達 5 週期總產量之 46–51% (圖 3)，第 2 週期產量次之，第 3 至第 5 週期產量則只有 500 g 左右，以 MS 品系用室內發酵或傳統戶外堆積發酵之堆肥，在每單一週期的產量表現上，二者無統計上顯著差異 ，而 F4KN 品系則在前二個週期及第 5 週期呈現以室內發酵堆肥栽培產量顯著高於以戶外堆積發酵堆肥栽培處理者。

討　　論

本研究發現室內發酵方法製作洋菇堆肥，在製作時間上與對洋菇五週期產量均顯著優於傳統戶外堆積發酵之方法。在堆肥的製作過程中，氧氣扮演著重要的關鍵，不論是在第 1 階

段或第 2 階段，必須維持在好氧狀態下進行發酵。本研究發現堆肥材料混合後移入室內發酵槽 1 天之後，如不引進外氣，很快的氧氣濃度就會降至 10% (v/v) 以下。Laborde *et al*. (1993) 認為堆肥發酵的過程若為厭氧狀態，稻草會因分解得不完全，而呈現較黃的顏色，同時產生

表 2. 比較室內發酵與傳統室外發酵法製作之堆肥成份

Table 2. Comparisons of the chemical composition in the two composts prepared from the indoor composting and conventional composting

Component	Conventional composting			Indoor comosting		
	Before [z]	Middle [y]	Finished	Before	Middle [x]	Finished
Nitrogen (%)	1.0	1.9	2.0	1.1	1.6	2.0
P_2O_5 (%)	2.5	3.0	2.8	1.2	1.2	2.5
K_2O (%)	1.8	1.7	1.6	1.1	1.6	1.4
Electrical conductivity (mS/cm) [w]	2.1	1.7	1.7	0.7	1.7	3.0
CaO (%)	8.9	11.7	10.6	4.5	4.3	10.6
MgO (%)	0.8	0.8	0.8	0.5	0.5	0.7
Iron (mg/kg)	3162	3247	3326	3009	2901	4967
Manganese (mg/kg)	1300	1463	1258	1031	1082	806
Copper (mg/kg)	28	33	35	18	21	34
Zinc (mg/kg)	286	343	268	263	200	236
Organic matter (%)	76	65	64	76	67	66
Carbon (%)	50	38	37	52	39	38
pH value [w]	7.8	8.4	7.5	8.0	7.5	7.1
Water contain (%)	69	77	74	78	74	73
C/N	50	20	19	50	24	19
Dry weight (g)	2428	nd [v]	1329	4857	nd	3122
Dry matter loss (%)	0	nd	45	0	nd	36

[z] Rice straw mixed with the compost components before composting.
[y] The compost outdoor composting were turned four times.
[x] The compost of first phase indoor composting process before the Pasteurization.
[w] Compost added water at a ratio of 1:5.
[v] nd: no determination.

表 3. 以室內發酵法及傳統方法製作之堆肥栽培洋菇 MS、F4KN 兩品系在產量與生物效率特性之比較

Table 3. Comparison of fruiting characteristics of two white mushroom srtains MS and F4KN, cultivated on conventional compost and indoor composting compost [z]

Treatment	Average yield (g/bag)	Biological efficiency (%) [y]	Mushroom yield (kg/m^2)	Days from casing to fruiting	Days of five flushes
MS-IC	4626 ± 34 a [x]	114 ± 1 a	29.1 ± 0.2 a	26.6 ± 0.1 a	35.5 ± 0.2b
MS-CC	4173 ± 117 b	105 ± 3 b	26.2 ± 0.7 b	27.1 ± 0.2 a	35.7 ± 0.3 b
F4KN-IC	4659 ± 56 a	115 ± 1 a	29.3 ± 0.4 a	24.5 ± 0.3 b	39.3 ± 0.5 a
F4KN-CC	3594 ± 69 c	90 ± 2 c	22.6 ± 0.4 c	24.4 ± 0.5 b	37.6 ± 0.7ab

[z] CC: conventional compost; IC: indoor composting compost; Each plastic bag contained 15 kg compost of which water content CC was 73.5%, IC was 73.0 %. There were 8 replicates for each strain.
[y] Biological efficiency = fresh mushroom weight ÷ dry weight of compost × 100%.
[x] Mean ± standard error (n = 5). Means of the five flushes by the same latter in the same column are not significantly different ($P < 0.05$) by LSD test.

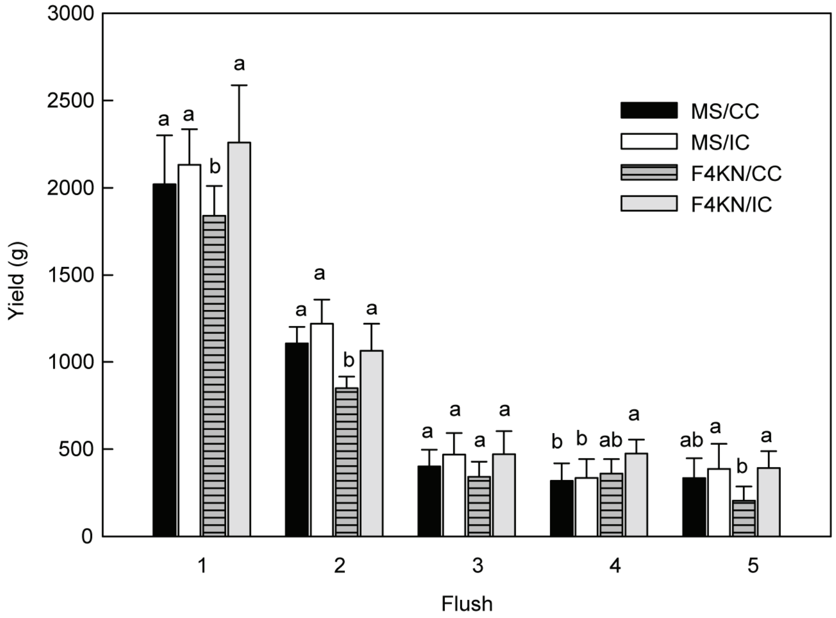


圖 3. 以室內發酵與戶外堆積發酵製作之堆肥栽培洋菇 MS 及 F4KN 二品系對 5 週期產量之影響。

Fig. 3. Effects of mushroom yield of two white mushroom strains MS and F4KN, cultivated on conventional compost and indoor composting compost for five flushes. Bar = standard error. Means among the five flushes by the same latter are not significantly different ($P < 0.05$) by LSD test.

有機酸，對洋菇具有毒性而抑制洋菇菌絲的生長。在堆肥第 2 階段發酵，對氧氣的需求更為殷切，堆肥轉化菌 (*Scytalidium thermophilum*) 需要氧氣的存在才能大量繁殖。Derikx *et al.* (1990) 研究發現在 50℃時堆肥微生物對氧氣的需求較高，超過 70℃則為非生物性活動，對氧氣的需求較低。傳統發酵方法第 2 階段是在菇床上堆積成薄層，可使溫度不致於太高，且可保持良好的通氣性；室內堆肥發酵法不論在高溫發酵操作及後發酵過程中均可偵測堆肥氧氣含量，控制外氣進入，堆肥每個點之溫度和通氣量都很一致，因此可完全保持堆肥於好氣性狀態下。傳統戶外堆積之堆肥，常因堆積高度、厚度及和外面空氣接觸的面積的不一而造成溫度和含氧量的不同，致使整體發酵程度有所差異，而期間又需要耗費人力將堆肥翻堆再重新堆積；因此，需耗時 30 天以上才能完成堆肥之製作，而隧道式發酵槽由於堆肥發酵得很均勻，18 天即可完成，可以有效節省製作時間，並降低材料佔據工作場所的時間。同時本研究發現，在室內堆肥發酵過程中，明顯的無惡臭之氣體產生，Derikx *et al*. (1991) 提出隧道式室內發酵法製作之堆肥比傳統堆肥明顯降低含硫化合物之產生達 90%。

堆肥製作完成後，分別取樣分析兩堆肥的成份，結果發現兩者在成份上很相近。Labore (1991) 提出堆肥最適的無機養分含量，N 為 2.3–2.4%、P_2O_5 為 1.6–2.0%、K_2O 為 2.7–3.2%、CaO 為 2.0–4.0%和 MgO 為 0.5–0.7%。本研究發現室內發酵堆肥和傳統戶外發酵堆肥的氮含量約在 2.0%，比其稍微低一些，將來在製作堆肥時，可考慮增加氮的比例；在其他養分含量亦略顯不足，也需作調整。堆肥發酵主要目的之一，就是降低栽培材料之碳氮比，由 50 降低

至 20–25 左右，以利菇菌生長利用與提供生長所需之營養分。Laborde (1993) 認為要維持洋菇的高產量，堆肥的碳氮比最好在 14–17 之間。本研究發現室內發酵堆肥為 19.0，而傳統戶外發酵堆肥的碳氮比也達 19，二者皆略為偏高，如上述般未來在製作堆肥時如酌量提高堆肥的氮素源則應可達此一標準。許多報告指出有機質含量高低會影響洋菇的產量表現，而 Harper *et al*. (1990) 認為室內發酵之堆肥可減少營養要素的損失，增加洋菇潛在的產量及大幅縮短堆肥製作時間。在本研究也得到相似的結果，有機質的含量在完成室內發酵堆肥中仍保有 66%，下降比例為 10%，而傳統戶外堆積發酵堆肥有機質含量僅為 64%，而下降比率為 12%。

在栽培洋菇產量比較上，MS 與 F4KN 二品系以室內發酵堆肥栽培，大致皆顯著優於以傳統發酵堆肥栽培者。Gaze & Willoughby (1998) 提出洋菇採收至 4 個週期，每噸堆肥可以生產 298 kg 的洋菇。本研究發現以室內發酵堆肥栽培洋菇，採收 4 個週期，每噸堆肥可生產 284 kg 的洋菇，略低於國外洋菇的產量，而在西班牙地區 (Pardo *et al.* 2007) 以乾物重 100 kg 堆肥栽培，統計洋菇 3 個週期產量，最高為 86.7 kg，而本研究結果最高產量可達 94.3 kg (MS 品系)。Gerrits *et al.* (1995) 認為由於室內發酵法製作堆肥是在材料混合後，即入隧道式發酵槽進行發酵，因此，材料混合的是否均勻，水分含量是否充足，均在一開始就決定，一旦入隧道式發酵槽即無法改變。Gerrits (1992) 建議室內發酵法製作堆肥時的水分含量要比傳統發酵堆肥高一些，最好在初入發酵槽時水分含量為 74%，在下種時為 69%。本試驗在入發酵槽時為 78%，完成堆肥時含水量 73%，略高於建議值，對此在未來堆肥製作時可加以參考修正。

堆肥品質的穩定度比較上，本研究發現傳統發酵堆肥在戶外堆積時容易受到氣候的影響，堆肥溫度常常達不到 70℃，還需要另外加蒸氣加熱。在戶外堆積發酵由於天氣溫度和下雨等的變動因子，致使每次堆肥製作的條件均不相同，無法維持堆肥品質的一致性。隧道式室內堆肥發酵槽，則不受外在天氣的影響，堆肥製作的流程一致，只要控制堆肥溫度及通氣量，即可確保每次製作的堆肥品質。另外，利用隧道式室內堆肥發酵槽進行堆肥後發酵，由於可以控制溫度及通氣量，可以堆積的厚度較高，不必在出菇室中堆成薄層，可以節省空間，如果考量一併進行大堆走菌，則可節省堆肥走菌佔據出菇室的時間，可使出菇室由原本一年栽培 4 次洋菇 (傳統堆肥製作時間加上採收 5 週期約需 90 天以上) 提高為 6 次，大大提高菇舍的使用效率及降低生產成本。室內發酵法製作堆肥在人力方面亦比傳統堆肥方法省工，傳統堆肥必須 3 天翻堆一次，以維持堆肥在好氧狀態，目前工資日益升高，利用室內發酵法只要通入外氣，並不需翻堆，因此可以節省人力。但是利用隧道式室內發酵製作堆肥最大的缺點，是在堆肥製作的過程中，堆肥各處的溫度、通氣量都很均勻，因此，在第一階段的發酵高溫過程中，堆肥中有益微生物如堆肥轉化菌 (*S. thermophilum*) 或有害雜菌等均會被殺死；因此 Gerrits (1994)、Laborde *et al.* (1993) 與 Miller (1997) 建議在第二階段的後發酵前，需混合 1.5–8%富含有多種的堆肥轉化菌之已發酵好的堆肥，才可使堆肥轉化成適合洋菇菌絲生長。Vijay *et al.* (1999) 指出，讓堆肥較具有選擇性，可供洋菇菌絲生長而減少其他雜菌汙染之發生。同時 Straatsma *et al.* (1994) 認為，堆肥轉化菌的菌量和洋菇的產量呈正相關。

以上結果顯示，室內發酵法製作洋菇堆肥不僅可縮短近一半之製作時間，且品質較穩定，比傳統戶外堆積發酵方法佳，而且在產量上更具顯著性差異。此項發酵技術不僅可提高洋菇產量，提高出菇室利用率，亦可減少發酵

過程擾人的臭味發生的問題，此技術具有相當的實用價值，值得進一步研究與推廣。

引用文獻 (Literature cited)

Derikx, P. J. L., H. J. M. Op den Camp, C. van der Drift, L. J. L. D. van Griensven, and G. D. Vogels. 1990. Odorous sulfur compounds emitted during production of compost used as a substrate in mushroom cultivation. Appl. Environ. Microbiol. 56: 176–180.

Derikx, P. J. L., H. J. M. Op den Camp, C. van der Drift, L. J. L. D. Van Griensven, and G. D. Vogels. 1990. Biomass and biological activity during the production of compost used as a substrate in mushroom cultivation. Appl. Environ. Microbiol. 56:3029–3034.

Derikx, P. J. L., F. H. M. Simons, H. J. M.Op Den Camp, C. Van Der Drift, L. J. L. D. Van Griensven, and G. D. Vogels. 1991. Evolution of volatile sulfur compounds during laboratory-scale incubations and indoor preparation of compost used as a substrate in mushroom cultivation. Appl. Environ. Microbiol. 57:563–567.

Gaze, R. H. and N. Willoughby. 1998. A controlled pre-bulk phase Ⅰ process. Mush. News 46:10–13.

Gerrits, J. P. G. 1992. Trends in composting. Mush. J. 508:46–51.

Gerrits, J. P. G. 1994. Developing indoor composting: a historical view. Mush. J. 530:15–19.

Gerrits, J. P. G., Amsing, J. G. M., Straatsma, G., and L. J. L. D. von Griensven. 1995. Phase I process in tunnels for the production of *Agaricus bisporus* compost with special reference to the importance of water. Mush. Sci. 14:203–211.

Happer, E., F. C. Miller, and S. Stuart. 1990. The energy balance of mushroom composting and production. p.68–79. *in* the Proceeding of AMGA/ISMS International Seminar on *Agaricus* Compost. Sydney, Australia.

Huang, W. T. 1998. Nutrient Diagnosis and Fertilization Improvemetns for Lychee (*Lichi chinensis* Sonn.) in Taiwan. Master Thesis, National Chung Hsing University. Taiwan. 68 pp. (in Chinese)

Laborde, J. 1991. Composting: current and future technique in France and abroad. Mush. Infor. 5:4–24.

Laborde, J., G. Lanzi, B. Francescutti, and E. Giordani. 1993. Indoor composting: general principles and large scale development in Italy. p.93–113. *in*: Mushroom Biology and Mushroom Products. (Chang, S., Buswell, J. A., and S. Cheu, eds.) The Chinese University Press. Hong Kong.

Miller, F. C. 1997. Enclosed phase-I mushroom composting systems-considerations of the underlying technology and methods of implementation. p.129–139. *in*: Advances in Mushroom Biology and production. (Rai, R. D., B. L. Dhar, and R. N. Verma, eds.) Solan, India.

Nelson, D. W. and L. E. Sommers. 1982. Total carbon, organic carbon, and organic matter. p.570–571. *in*: Methods of Soil Analysis Part 2. 2nd ed. (Page A. L., ed) American Society of Agronomy. Madison, USA.

Pardo, A., M. A. Perona, and J. Pardo. 2007. Indoor composting of vine by-products to produce substrates for mushroom cultivation. Spanish J. Agric. Res. 5:417–424.

Peng, J. T. 1995. *Agaricus bisporus*. p.485–490. *in*: Taiwan Agriculture Encylopedia (Crop edition-2) Harvest Farm Magazine Pub. Taipei. (in Chinese)

Straatsma, G., R. A. Samson, T. W. Olijnsma, H. J. M. Op den Camp, J. P. G. Gerrits, and L. J. L. D. Van Griensven. 1994. Ecology of thermophilic fungi in mushroom compost, with emphasis on *Scytalidium thermophilum* and growth stimulation of *Agaricus bisporus* myeclium. Appl. Environ. Microbiol. 60: 454–458.

Straatsma, G., T. W. Olijnsma, J. P. G. Gerrits, J. T. M. Amsing , H. J. M. Op den Camp, and L. L. D. Van Griensven. 1994. Inoculation of *Scytalidium thermophilum* in button mushroom compost and its effect on yield. Appl. Environ. Microbiol. 60:3049–3054.

Vijay, B., S. R.Sharma, R. N. Verma, and T. N. Lakhanpal. 1999. Role of thermophic fungi in compost production for white button mushroom (*Agaricus bisporus*). p.433–456. *in* the Proceeding of the 3rd International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products and AMGA's 26th National Mushroom Industry Conference. Hawkesbury. Australia.

Effect of Indoor Composting and Conventional Composting on the Yield of *Agaricus bisporus* [1]

Jin-Tong Chen[2,4], Jin-Torng Peng[2], Meei-Hsing Chen[2], and Shiuan-Yuh Chien[3]

Abstract

Chen, J. T., J. T. Peng, M. H. Chen, and S. Y. Chien. 2010. Effect of indoor composting and conventional composting on the yield of *Agaricus bisporus*. J. Taiwan Agric. Res. 59:19–28.

Indoor composting and conventional composting for white button mushroom (*Agaricus bisporus*) cultivation during composting phase I were compared based on chemical composition, time of composting, and yields of mushrooms. Chemical compositions were similar between indoor and conventional composts. The C/N ratios were 19.0 for conventional and indoor compost. Indoor compost was ready for use in 18 days, while conventional compost required more than 30 days of production time. The yields of mushroom strain MS and F4KN cultivated on indoor compost were higher than those cultivated on conventional compost by 10.8% and 29.6% ($P < 0.05$), respectively. This study suggests that indoor composting is a better practice for mushroom production because it shortens the period of composting, produces higher quality of compost and increases mushroom yield.

Key words: Indoor composting, Compost, *Agaricus bisporus*, Yield.

---

1. Contribution No.2392 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: January 22, 2010.
2. Respectively, Assistant Researcher, Advisor, and Assistant Researcher, Plant Pathology Division, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Senior Researcher, Agricultural Chemistry Division, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
4. Corresponding author, e-mail: jtchen@tari.gov.tw; Fax: (04)23302803.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 59(1):29–41 (2010)

台灣地區土壤中木黴菌株對植物病原真菌拮抗能力之篩選[1]

倪蕙芳[2] 許淑麗[2] 陳瑞祥[3] 楊宏仁[4,5]

摘 要

倪蕙芳、許淑麗、陳瑞祥、楊宏仁。2010。台灣地區土壤中木黴菌株對植物病原真菌拮抗能力之篩選。台灣農業研究 59:29–41。

本研究自台灣田間作物土壤分離獲得 643 株木黴菌，利用玻璃紙抗生法篩選對百合灰黴病菌 (*Botrytis elliptica*)、褐根病菌 (*Phellinus noxius*) 及疫病菌 (*Phytophthora capsici*) 等植物病原真菌生長具有拮抗性之木黴菌菌株；結果顯示 Tri-003 及 Tri-080 菌株對這 3 種病菌之菌絲生長抑制率皆可達 100%。另外，此兩菌株對荔枝露疫病菌 (*Peronophythora litchii*) 及腐霉菌 (*Pythium* sp.) 之菌絲生長亦具有 100%的抑制率。此兩菌株經由形態特徵及 rDNA ITS 序列比對後鑑定皆為 *Trichoderma virens*。

關鍵詞：木黴菌、拮抗性、植物病原真菌、生物防治。

前 言

植物病害在農業生產中為一重要之限制因子，截至目前為止，約有 30%之植物仍受到植物病原菌之危害，而土傳性病原之危害更是造成作物生產量降低之重要因素。雖然利用殺菌劑防治植物病害一直是農民廣為使用的方法，然而藥劑之不當使用常衍生出病原菌抗藥性增加及環境污染等問題 (Kucuk & Kivanc 2003)。生物防治利用原本即存在於自然界之微生物進行植物病害之防治，可以大幅度減少化學藥劑之使用與其對環境之污染，已成為植物病蟲害防治的新趨勢，因此拮抗微生物之篩選與應用便成為開發植物病害防治用生物製劑的首要目標。

木黴菌 (*Trichoderma* spp.) 為普遍存在於自然界之土壤微生物，種類繁多，而最常用於生物防治菌之木黴菌種類有 *T. virens* von Arx.、*T. viride* Pers. 及 *T. harzianum* Rifai 等 (Benitez *et al*. 2004)。木黴菌之所以可以成功做為生物防治菌乃因其具有繁殖容易、對環境耐受性高、根圈纏據力佳、對許多植物病原真菌

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2396 號。接受日期：99 年 3 月 9 日。
2. 本所嘉義農業試驗分所植物保護系副研究員兼系主任、研究助理。台灣 嘉義市。
3. 國立嘉義大學生化科技學系副教授。台灣 嘉義市。
4. 本所嘉義農業試驗分所研究員兼分所長。台灣 嘉義市。
5. 通訊作者，電子郵件：yhr@dns.caes.gov.tw；傳真機：(05)2764525。

生長有極佳之拮抗性以及具有促進植物生長及誘導植物抗性等特點 (Benitez *et al*. 2004)。木黴菌作為生物防治菌目前主要還是應用在防治土傳性病害 (Monte 2001)，例如由鐮胞菌 [*Fusarium oxysporum* Schltdl.; *F. solani* (Mart.) Sacc.; *F. colmorum* (Wm. G. Sm.) Sacc.] 引起之萎凋及根腐病 (Federico *et al.* 2007)、*Rhizoctonia solani* J. G. Kühn 所引起之莖腐病 (Bertagnolli *et al.* 1998; Jong *et al.* 1999)、*Pythium* spp. 引起之猝倒病及根腐病以及 *Phytophthora* 引起之根腐病等 (Sid *et al.* 1999)。*Trichoderma* 除了在真菌性病害防治之應用外，在細菌性及病毒性病害之防治上亦有成功之報告，如應用 *Trichoderma* GT3-2 菌株可以誘導胡瓜對由 *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* 造成之細菌性斑點病的抗性，使保護率達 52% (Koike *et al*. 2001)；*T. harzianum* T-1 & T-22 及 *T. virens* T-3 菌株可誘導胡瓜抗病毒病害，能降低由病毒所造成胡瓜植株生長抑制程度 (Lo *et al*. 2000)。目前國外已有多種木黴菌相關商品問世，如美國的 Topshield (T22) 及以色列的 Trichodex (T39) 均為實際應用之商品 (Bhuyan 1994)。

有關木黴菌防治病害或抑制病原的主要機制，已知有五大類，即產生抗生素、營養競爭、超寄生、細胞壁分解酵素、以及誘導植物產生抗性等 (Benitez *et al*. 2004)。木黴菌產生之抗生物質以 gliotoxin、viridin 及 gliovirin 最廣為人知。Gliotoxin 由 Weinding (1941) 首先發現，其具有很強之抗生活性，包括能抑制細菌繁殖、真菌孢子發芽及病毒之複製 (Rightsel *et al.* 1964)。*T. virens* 所產生之 gliotoxins 能有效抑制 *Phytophthora* spp. 菌絲之生長、產生孢子及游走孢子之能力 (Wilcox *et al.* 1992)。另外 viridin 屬於 steroids 類抗生素，亦具有抑制 *R. solani* 與 *Pythium* spp. 生長，以及 *Sclerotium rolfsii* Sacc. 菌核發芽之能力 (Ghisalberti 2004)。

台灣位處熱帶與亞熱帶，擁有豐富之自然資源，微生物相極具多樣化，亦有利於具有生物防治效力拮抗微生物之篩選，因此本研究由台灣各地之農田土壤分離收集木黴菌株，並測試其對植物病原真菌的拮抗能力，篩選台灣本土具生物防治潛力之木黴菌，供進一步作為開發生物製劑之用。

材料與方法

供試材料來源

木黴菌菌株之採集、分離及保存：採集彰化、雲林、嘉義、台南、高雄、屏東及台東等地區作物之根圈土壤，每份土樣之採集點皆以 GPS 衛星定位，利用土壤連續稀釋平板法分離木黴菌。每一土壤採樣秤取 10 g 加入 100 mL 無菌水攪拌，靜置後再將上層液以無菌水進行 10 倍系列稀釋後，取 100 倍及 1000 倍之稀釋液各 100 μL，以 L 型玻棒均勻塗抹於添加 0.25%乳酸 (lactic acid) 之 PDA 培養基 (Potato Dextrose Agar, Merck, USA) 平板上，於室溫 (25℃–28℃) 下培養。初步以培養基上菌落及產孢形態為依據，挑取木黴菌絲尖端移至 PDA 平板上純化，待產孢後進行菌株編號及單孢純化。純化後之菌株刮取孢子以無菌水製成懸浮液，再與 25%甘油進行混合，分別置於-20℃及-80℃下保存。於每次試驗前取出菌種保存液於 PDA 平板上進行更新，以恢復菌種之生長及活力。

供試植物病原菌：本研究測試之植物病原菌真菌包括 *Phytophthora capsici* Leonian 番茄菌株 (Pc-T) 及辣椒菌株 (Pc-P)、*Phellinus noxius* (Corner) G. H. Cunn. (荔枝)、*Pythium* spp. (莧菜、甜瓜、蘭花、胡瓜)、*Colletotrichum gloeosporioides* (*Penz.*) Sacc. (芒果)、*Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. (木瓜)、*Phomopsis* sp. (芒果)、*Peronophythora litchii* Chen ex Ko *et al.* (荔

枝)、*Botrytis elliptica* (Berk.) Cooke (百合)、*Fusarium* sp. (百合) 及 *Rhizoctonia solani* (百合)，其中 *Phytophthora capsici*、*Phellinus noxius* 及 *Pythium* sp. 分別由農業試驗所植物病理組安寶貞博士、蔡志濃博士及黃晉興助理研究員提供，其餘則為本實驗室保存之菌株。上述菌株除 *Peronophythora litchi* 保存於 10% V-8 Agar 外，其餘菌株皆保存於 PDA 試管，於 25℃ 恆溫箱中培養，每次試驗前進行更新。

木黴菌與植物病原真菌之抗生測定

將純化保存於-20℃甘油之木黴菌菌株，分別吸取 10 μL 於 PDA 培養基活化後再以 PDA 於 25℃ 恆溫箱培養 3 天後所得之菌落，以直徑 5 mm 打孔器切取菌絲邊緣製作菌絲塊，移至已貼有滅菌之 3.5 cm × 3.5 cm 玻璃紙之直徑 5.5 cm PDA 培養基中心點位置，在 25℃恆溫箱培養 16 小時後，將玻璃紙連同木黴菌菌絲塊一起撕下。再將培養於 PDA 平板上之 *B. elliptica*、*C. gloeosporioides*、*F.* sp.、*L. theobromae*、*Peronophythora litchii*、*Phellinus noxius*、*Phomopsis* sp.、*Phytophthora capsici* (Pc-T & Pc-P)、*Pythium* sp.及 *R. solani* 等植物病原真菌，用直徑 5 mm 打孔器切取菌絲邊緣得到之菌絲塊接種於前述 PDA 培養皿中心點上。另設不接木黴菌之對照組，每處理 5 重複，置於 25℃恆溫箱培養，每天測量記錄菌落大小至對照組菌絲長滿。以下列公式計算木黴菌對植物病原真菌菌絲生長之抑制百分率，藉以篩選對植物病原菌具拮抗能力之木黴菌菌株。病原真菌菌絲生長抑制率計算公式如下：

病原真菌菌絲生長抑制率 (%)＝ [(對照組培養平均直徑 － 處理組培養平均直徑)/對照組培養平均直徑] × 100

木黴菌之形態及分子鑑定

木黴菌之形態鑑定以掃描式電子顯微鏡及光學顯微鏡進行觀察。於室溫 (25℃–28℃) 培養於 PDA 平板 3 天之 Tri-003 及 Tri-080 菌株，切取約 10 mm^2 之菌絲塊，先以液態氮進行固定後，再置於桌上型掃描式電子顯微鏡 (SEM, TM-1000, Hitachii, Japan) 之觀察載台上，立即以 SEM 進行觀察孢子梗之形態及構造並照相紀錄。另於 PDA 培養基上挑取產生之孢子，以光學顯微鏡觀察並記錄 50 個以上之孢子大小，並進行平均值計算。木黴菌之分子鑑定則以分析核糖體非轉錄區間序列 (ITS) 進行。將木黴菌菌絲培養於裝有 15 mL PDB 之 50 mL 離心管，置於 25℃定溫箱以 100 rpm 振盪培養，待菌絲長至適當大小時，於預冷 4℃之離心機以 8000 rpm 離心 10 分鐘，倒掉上層液並以無菌水沖洗 3 次後冷凍乾燥。取 300 mg 冷凍乾燥之菌絲體，以預冷的玻棒搗碎後，置於 1.5 mL 的離心管中，加入 700 μL liysis buffer (50 mM Tris-HCl, pH 7.2; 50 mM EDTA, pH 7.2; 3% SDS; 1% mercaptoethanol)，震盪混合均勻後置於 65℃乾浴器中處理 1 小時，每隔 15 分鐘取出震盪 15 秒，以利菌絲體溶解。再加入比例爲 25：24：1 的 phenol：chloroform：isoamyl alcohol (Amresco, USA) 700 μL，輕微翻轉數次，混合均勻，於 4℃以 12,000 rpm 離心 10 分鐘。小心吸取 600 μL 上層液至新的離心管中，加入 600 μL chloroform (Riedel-de Haen, Germany) 輕微翻轉數次，於 4℃ 12,000 rpm 離心 10 分鐘。取 500 μL 上層液加 50 μL 3 M NaOAc (醋酸鈉)、500 μL 2-isopropanol (Fluka, Switzerland)，置於冰上 20 分鐘後以 12,000 rpm 於 4℃離心 10 分鐘，倒掉上層液，加入 500 μL70%冰冷酒精，於 4℃以 12,000 rpm 離心 5 分鐘，將酒精倒掉後烘乾，待沉澱物變透明時，加入 80 μL 滅菌之超純水，置於 65℃水浴槽 5 分鐘，即完成木黴菌 DNA 之萃取 (Lai 2003)。取 30 ng 所得之 DNA 作爲聚合酵素連鎖反應 (PCR) 所需的模板 DNA (template DNA) 濃度，加入內含 10× Taq buffer 2.5 μL、0.25 μL 10 mM dNTP、0.5 μL 10 mM ITS1 primer (5’TCCGTAGGTGAACCTGCGG3’)、0.5 μL 10 mM

ITS4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3') primer (White *et al*. 1990)、0.2 μL Taq (Protech, Taiwan) 反應液中，並於溫度循環控制反應器 (Applied Biosystems Gene Amp PCR System 2400, USA) 中進行聚合酵素連鎖反應，反應條件爲以 94℃30 秒變性 (denaturing)、52℃ 30 秒黏合 (annealing)、72℃ 30 秒延長 (extension) 進行 3 個循環 (cycles)，最後再以 72℃反應 7 分鐘後，取 10 μL 產物以 1.5% Agarose 膠體於 0.5× TBE buffer (0.45 M Tris, 0.45 M Boric acid, 0.01 M EDTA, pH 8.0) 緩衝液下，以 100 V 電壓進行電泳分離，並以 100 bp DNA Ladder (Protech, Taiwan) 作爲分子量大小的標記。電泳完成後，取出膠片，以溴化乙錠 (ethidium bromide) 染色 25 分鐘，再以影像分析系統 (Bio-Rad, Gel Doc 2000, USA) 觀察聚合酵素連鎖反應的結果。另外所得 PCR 產物委託源資生物科技公司以 ITS1 及 ITS4 爲定序引子進行核酸定序。

結　　果

木黴菌菌株之採集與分離

於彰化、雲林、嘉義、台南、高雄、屏東及台東等地採集 328 包作物之根圈土壤，土壤 pH 值由 3.3 至 8.5，作物相包括果樹、蔬菜、花卉、特用作物、森林作物等 80 種以上之作物，利用土壤連續稀釋平板法進行木黴菌之分離，所分離之木黴菌培養形態具有多樣化 (圖 1)，本研究目前於實驗室共低溫保存 643 株木黴菌菌株於甘油中。

玻璃紙抗生法篩選具拮抗性木黴菌菌株

本研究將所獲得之木黴菌菌株，取其中 301 株以玻璃紙抗生法與 *Fusarium* oxysporum、*Phytophthora capasici*、*Phellinus noxius*、*Botrytis elliptica* 等植物病原真菌分別進行拮抗性初步篩選試驗 (圖 2)，共篩選出 2 株對 *P. noxius*、*B. elliptica* 及 *P. capacisi* 等病原真菌菌絲生長具有 100%抑制效果之木黴菌菌株，分別為 Tri-003 及 Tri-080 (表 1)。其中 Tri-003 由台南縣白河鎮之木瓜園分離而得，另外 Tri-080 則由台南縣東山鄉之香蕉園分離而來。為進一步瞭解此兩株拮抗性木黴菌對其它病原真菌菌絲之生長抑制效果，本研究另以 *Colletotrichum gloeosporioides*、*Lasiodiplodia theobroma*、*Peronophythora litchii*、*Phomopsis* sp.、*Phytophthora capsici* (Pc-T & Pc-P)、*Pythium* spp. 及 *Rhizoctonia solani* 等植物病原菌進行拮抗試驗，結果發現兩株木黴菌對 *Peronophythora litchii*、*P. capsici* (Pc-T & Pc-P)、*Pythium* sp.-46、*Pythium* sp.-94、*Pythium* sp.-97 菌絲生長均可達 100%之抑制效果，而 Tri-003 及 Tri-080 對 *Rhizoctonia solani* 之菌絲平均生長抑制率分別為 86%及 100% (表 2)，但對 *Fusarium* 屬之真菌之拮抗性則不明顯。

木黴菌形態及分子鑑定

本研究所得之木黴菌 Tri-003 及 Tri-080 菌株，其生長速度很快，約 3 天即可長滿直徑 9 cm 之 PDA 平板，菌落呈棉絮狀外觀，未產生分生孢子時為白色，產生後為綠色，均會使培養基呈黃色 (圖 3A–D)，分生孢子梗直立或略微彎曲，並可再形成次級分支，其瓶狀孢子梗略呈圓錐狀，分生孢子圓形或橢圓形為單孢單室，在瓶狀枝上連結成團 (圖 3E、F)，測量 50 個分生孢子後，Tri-003 及 Tri-080 分生孢子大小分別為 ($3.99 \pm 0.40 \times 4.02 \pm 0.24$) μm，長寬比平均 1.14，以及 ($4.02 \pm 0.53 \times 3.49 \pm 0.40$) μm，長寬比平均 1.15 (圖 3G、H)。

在菌株的分子鑑定則以核糖體非轉錄區間之序列與 NCBI 基因庫中已知之木黴菌同段序列進行比對，結果發現 Tri-003 及 Tri-080 兩菌株皆可產生大小為 614 bp 之 PCR 產物，經進一步將 PCR 產物純化及核酸定序並以 Vector NTI 軟體 (Invitrogen Co., USA) 進行比對後，發現此兩木黴菌菌株 ITS1 及 ITS2 之核酸序列相同度均為 100%，而與基因庫中編號 EU280076

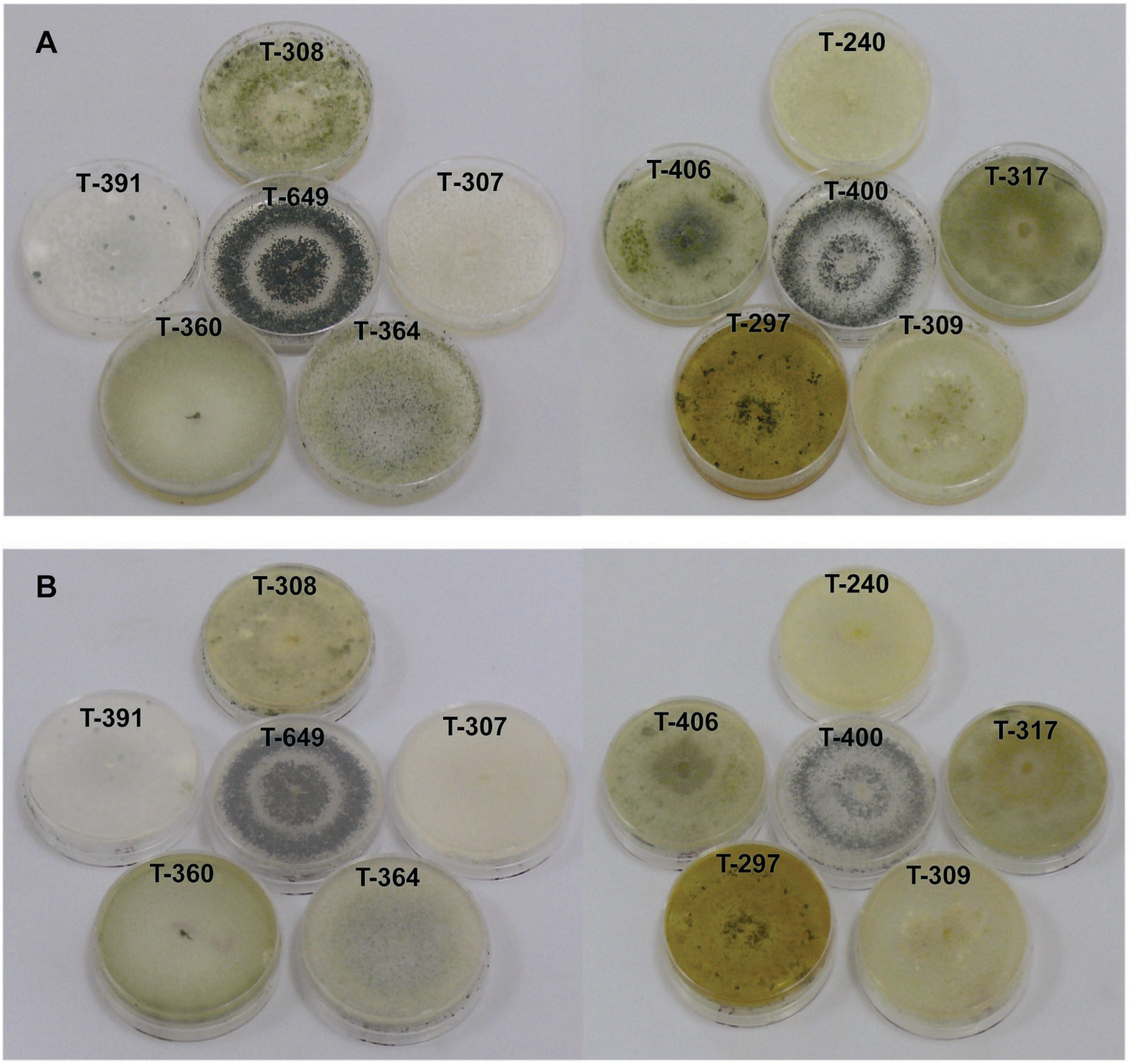


圖 1. 台灣地區土壤分離所得之不同木黴菌株在 PDA 培養基上之形態差異。

Fig. 1. Variations in culture morphology among different *Trichoderma* isolates collected from rhizosphere soils in Taiwan. (A) PDA cultures, top view; (B) PDA cultures, bottom view.

僅在 ITS1 序列有一個鹼基之差異，而與 EF442081 之 *T. virens* 同段核酸序列之相同度達 100% (圖 4)，Tri-003 與 Tri-080 之 ITS 序列則登錄於 NCBI 編號分別為 GU111538 及 GU111539。

討　　論

木黴菌為廣泛存在於土壤中之微生物，本研究為收集存在於台灣彰化以南之農田根圈土壤中之木黴菌菌株，用土壤稀釋平板法以含 2.5%之乳酸之 PDA 平板進行分離，以木黴菌

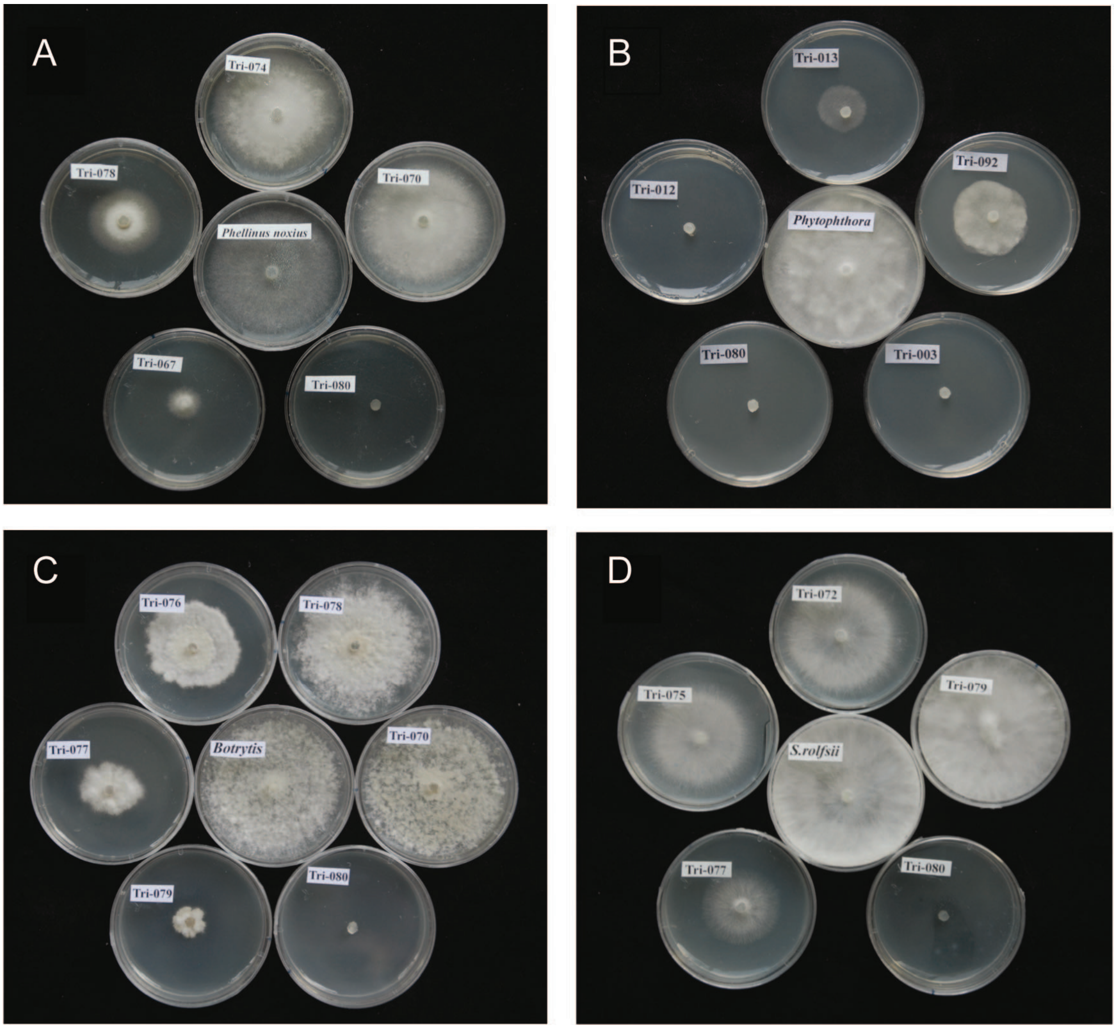


圖 2. 利用玻璃紙抗生法於 PDA 平板上測試木黴菌株對 *Phellinux noxius* (A)、*Phytophthora capsici* (B)、*Botrytis ellipitica* (C)、以及 *Sclerotium rolfsii* (D) 等植物病原真菌生長之拮抗作用。

Fig. 2. Antagonism of *Trichoderma* spp. on *Phellinus noxius* (A), *Phytophthora capsici* (B), *Botrytis ellipitica* (C), and *Sclerotium rolfsii* (D) using cellophane paper test. *Trichoderma* sp. isolate Tri-080 completely suppressed mycelial growth of all four plant pathogens (A–D).

在 APDA 生長之型態及產孢之特性等，共分離到 643 株木黴菌之菌株。所得之木黴菌移至 PDA 純化，待其產孢後，利用單胞分離再次純化，並將最後純化之木黴菌分別將孢子懸浮於 25% glycerol 中，以-20 及-80℃進行冷凍保存，本研究以此方法保存於-20℃冷凍 2 年以上之菌株，經重新更新仍具有相當好之活性。

本研究將所保存之木黴菌菌株先以玻璃紙抗生法篩選對 *Phytophthora* 等四種重要植物病原真菌生長具有抑制性之木黴菌菌株，經由隨機挑選之 301 株木黴菌菌株中篩選到 Tri-003

表 1. 利用玻璃紙抗生法測定不同木黴菌株對 4 種植物病原真菌生長之抑制能力

Table 1. Antagonism of five isolates of *Trichoderma* spp. from Taiwan on four fungal plant pathogens, using cellophane paper test

Isolates of *Trichoderma*	Growth inhibition of plant pathogens (%)			
	F. oxysporum	*P. capsici*	*P. noxius*	*B. elliptica*
Tri-003	22.6 ± 1.3 [z]	100.0	100.0	100.0
Tri-004	0.0	78.0 ± 7.7	0.0	12.7 ± 2.4
Tri-006	0.0	77.5 ± 8.9	0.0	36.9 ± 3.1
Tri-080	31.8 ± 1.5	100.0	100.0	100.0
Tri-082	31.8 ± 0.4	16.5 ± 2.6	0.0	34.7 ± 15.2

[z] Vaule of inhibition of mycelial growth (%) ± standard deviation; 4 replicates/treatment.

表 2. 利用玻璃紙抗生法測試木黴菌 Tri-003 及 Tri-080 分離株對植物病原真菌生長之抑制

Table 2. Antagonism of *Trichoderma* isolates Tri-003 and Tri-080 from Taiwan on fungal plant pathogens, using cellophane paper test

Fungal plant pathogens	Growth inhibition (%)	
	Tri-003	Tri-080
Colletotrichum gloeosporioides	11.6 ± 3.4 [z]	24.4 ± 8.9
Lasiodipiodia theobromae	24.2 ± 3.0	40.4 ± 5.0
Peronophythora litchi	100.0	100.0
Phomopsis sp.	23.8 ± 5.5	62.7 ± 13.8
Phytophthora capsici (Pc-T)	100.0	100.0
Phytophthora capsici (Pc-P)	100.0	100.0
Pythium sp.-13	90.2 ± 6.0	50.2 ± 11.5
Pythium sp.-46	100.0	100.0
Pythium sp.-94	100.0	100.0
Pythium sp.-97	100.0	100.0
Rhizoctonia solani-222	58.6 ± 8.4	79.6 ± 8.8
Rhizoctonia solani-227	86.0 ± 4.5	100.0
Rhizoctonia solani-367	59.3 ± 5.6	78.0 ± 4.9

[z] Vaule of inhibition of mycelial growth (%) ± standard deviation; 4 replicates/treatment.

及 Tri-080 對 *Phytophthora capcisi*、*Rhizoctonia solani*、*Botrytis elliptica*、*Pythium* spp. 及 *Phellinus noxius* 等植物病原真菌生長具有相當顯著之抑制能力。此兩菌株分別由台南縣之木瓜園及香蕉園之土壤獲得，此兩菌之抑菌範圍相當廣泛，舉凡對屬於擔子菌之褐根病菌、屬於卵菌綱之疫病菌、露疫病菌、腐黴菌及屬於不完全菌之灰黴病菌之生長都可以達到 100% 之抑制效果，為深具植物病害防治潛力之木黴菌菌株，值得進一步開發利用。至於其抑菌機制為何則值得進一步探討。已知測試病原菌菌株中 *Peronophythora litchii*、*Phytophthora* spp. 及 *Pythium* spp.皆屬於卵菌綱 (Oomycetes)，卵菌綱之細胞壁以纖維素爲主 (Gurr *et al.* 1992)，

顯示了本研究篩選得到之木黴菌菌株具拮抗性或許與纖維素分解酵素之產生有關，有待進一步測定纖維分解酵素之產量。已知木黴菌菌株除具有纖維素分解酵素之能力外，其亦具有分泌 chitinase (El-Katatny *et al*. 2001; de la Cruz *et al*. 1992; Nguyen *et al*. 2008)、ß-1,3-glucanases

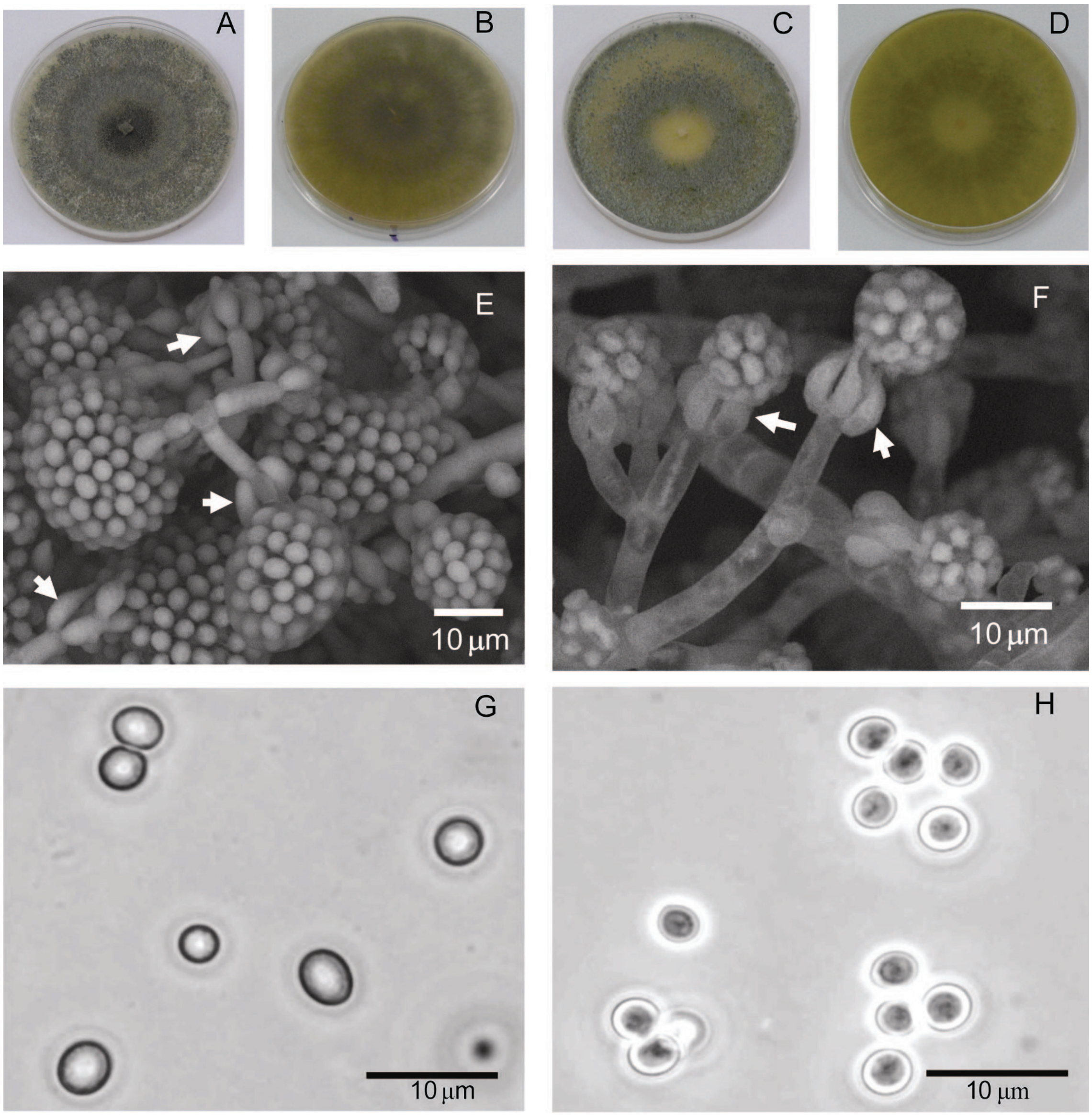


圖 3. 木黴菌 Tri-003 (A、B) 及 Tri-080 (C、D) 菌株培養在 PDA 培養基上之形態特徵。Tri-003 菌株產生瓶狀分生胞子梗 (E) 及球形分生胞子 (G)；Tri-080 菌株產生瓶狀分生胞子梗 (F) 及球形分生胞子 (H)。

Fig. 3. Morphological characteristics of *Trichoderma* Tri-003 and Tri-080 isolates cultured on PDA.　Colony (A, B), conidiophores (E), and of conidia (G) of Tri-003, and colony (C, D) conidiophores (F) and of conidia (H) of Tri-080. (A) and (C), PDA cultures, top view; (B) and (D), PDA cultures, bottom view.

A

```
                          1                                                50
       EF442081-ITS1    (1) CCGAGTTTACAACTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACTGTTGCCT
       EU280076-ITS1    (1) CCGAGTTTA-AACTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACTGTTGCCT
GU111538-ITS1(Tri-003)  (1) CCGAGTTTACAACTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACTGTTGCCT
GU111539-ITS1(Tri-080)  (1) CCGAGTTTACAACTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACTGTTGCCT
                          51          *                                    100
       EF442081-ITS1   (51) CGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCG
       EU280076-ITS1   (50) CGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCG
GU111538-ITS1(Tri-003) (51) CGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCG
GU111539-ITS1(Tri-080) (51) CGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCG
                          101                                              150
       EF442081-ITS1  (101) CCGGAGGACCAACCAAAACTCTTATTGTATACCCCCTCGCGGGTTTTTA
       EU280076-ITS1  (100) CCGGAGGACCAACCAAAACTCTTATTGTATACCCCCTCGCGGGTTTTTA
GU111538-ITS1(Tri-003)(101) CCGGAGGACCAACCAAAACTCTTATTGTATACCCCCTCGCGGGTTTTTA
GU111539-ITS1(Tri-080)(101) CCGGAGGACCAACCAAAACTCTTATTGTATACCCCCTCGCGGGTTTTTA
                          151                                            199
       EF442081-ITS1  (151) CTATCTGAGCCATCTCGGCGCCCCTCGTGGGCGTTTCGAAAATGAATCA
       EU280076-ITS1  (150) CTATCTGAGCCATCTCGGCGCCCCTCGTGGGCGTTTCGAAAATGAATCA
GU111538-ITS1(Tri-003)(151) CTATCTGAGCCATCTCGGCGCCCCTCGTGGGCGTTTCGAAAATGAATCA
GU111539-ITS1(Tri-080)(151) CTATCTGAGCCATCTCGGCGCCCCTCGTGGGCGTTTCGAAAATGAATCA
```

B

```
                          1                                                50
       EF442081-ITS2    (1) CAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTTTACG
       EU280076-ITS2    (1) CAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTTTACG
GU111538-ITS2(Tri-003)  (1) CAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTTTACG
GU111539-ITS2(Tri-080)  (1) CAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTTTACG
                          51                                               100
       EF442081-ITS2   (51) GGGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCA
       EU280076-ITS2   (51) GGGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCA
GU111538-ITS2(Tri-003  (51) GGGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCA
GU111539-ITS2(Tri-080) (51) GGGCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCA
                          101                                              150
       EF442081-ITS2  (101) GTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCCACAGCCGTTAAAC
       EU280076-ITS2  (101) GTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCCACAGCCGTTAAAC
GU111538-ITS2(Tri-003)(101) GTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCCACAGCCGTTAAAC
GU111539-ITS2(Tri-080)(101) GTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCCACAGCCGTTAAAC
                          151               170
       EF442081-ITS2  (151) ACCCCAAACTTCTGAAATGT
       EU280076-ITS2  (151) ACCCCAAACTTCTGAAATGT
GU111538-ITS2(Tri-003)(151) ACCCCAAACTTCTGAAATGT
GU111539-ITS2(Tri-080)(151) ACCCCAAACTTCTGAAATGT
```

圖 4. 木黴菌 EF442081、EU280076、Tri-003 及 Tri-080 等菌株 ITS1 (A) 及 ITS2 (B) 序列比對結果。

Fig. 4. The nucleotide sequence alignment of ITS1 and ITS2 regions among EF442081, EU280076, GU111538 (Tri-003), and GU111539 (Tri-080). All of accession numbers on DDBJ/NCBI/GenBank. (* indicated sequences unconsensus)

(El-Katatny *et al*. 2001; Lorito *et al*. 1994)、ß-1,6-glucanases (de la Cruz *et al*. 1995; Montero *et al*. 2005) 及 protease (Germia *et al*. 1993; Pozo *et al*. 2004; Grinyer *et al*. 2007) 等酵素之能力，此 3 種酵素之主要功能為分解病原真菌細胞壁的 chitin、ß-glucans 及

polysaccharides，造成細胞壁不完整，使病原菌無法繼續生長而死亡，因此，在木黴菌的拮抗機制中，上述水解酵素扮演極重要之角色 (Yang *et al*. 2009)。

除真菌細胞壁分解酵素之作用外，已知 *T. virens* 尚會分泌多種二次代謝產物如 gliotoxin、glioviridin 及 viredin 等，抑制真菌孢子的發芽 (Wilcox *et al*. 1992)。Dennis & Webster (1971) 等人發現木黴菌分泌的酵素或二次代謝產物會通過玻璃紙滲透於培養基中，進而抑制病原真菌的生長。Wang (2006) 為了解玻璃紙之通透性，利用 protein marker 進行測試，發現處理組與對照組所得到的條帶是相同的，顯示玻璃紙對 97 kDa 以下之蛋白並無阻隔效果。本研究利用玻璃紙抗生法所篩選之 Tri-003 及 Tri-080 究竟是以產生細胞壁分解酵素或抗生物質拮抗真菌病原之生長則有待進一步闡明。另外在對 *Fusarium* 之生長抑制菌株篩選上，過去雖已有報告顯示木黴菌對 *Fusarium* 之效果，然而本研究所篩選之木黴菌菌株，在以玻璃紙抗生法做為篩選方法時，對 *Fusarium* 生長並未具有明顯之抑制效果，究其原因推測木黴菌對 *Fusarium* 之防治機制可能並非透過二次代謝物，而可能是利用營養競爭或微寄生等機制達到抑菌作用，因此在本研究並無法以玻璃紙抗生法篩選出來。

由本研究所獲得 Tri-003 及 Tri-080 均為生長快速且產孢能力極佳之菌株，具有瓶狀枝，產生黃色素之特性，為 *T. virens* 之特徵之一。有關木黴菌之分類一直是極具複雜性，ITS 區間 DNA 序列的親源性分析近年來蔚為趨勢，本研究所探討之 Tri-003 及 Tri-080 由核糖體 ITS 序列得知與 NCBI 資料庫搜尋所獲之相近菌株 *T. virens* EU280076 及 EF442081 之序列相同度達 100%，綜合形態特徵與分子鑑定資料顯示兩菌應均為 *T. virens*。因此藉由核糖體非轉錄區間序列進行鑑定輔助形態分類，應不失為木黴菌方便而準確之鑑定方式。

有關 *T. virens* 應用於植物病害防治之研究，已有許多由台灣地區土壤上篩選所得之菌株分別證實可以應用在防治水稻紋枯病 (Chu 2004)、甘藍立枯病 (Chen 1998) 與向日葵、菊花菌核病 (Wu 1991) 等。有關本研究所收集之木黴菌菌株 Tri-003 及 Tri-080，應具有植物病害防治潛力，值得進一步研究開發作為生物防治製劑。另外值得注意的是由於本研究為針對木黴菌所分泌之物質是否具有抑制植物病原生長之能力進行篩選；至於其它機制，如營養競爭、微寄生或是誘導抗性等均有待進一步加以評估。因此本研究中收集所得但未表現抗生作用之木黴菌菌株，仍應加以保存並做為未來篩選測試之用。

誌　　謝

本研究承農業試驗所安寶貞博士、蔡志濃博士、黃晉興助理研究員提供植物病原菌菌株；柯文琪、蔡秀慧、曾怡婷、鄭淑芳、蔡姿瑩及田蕙萍等助理協助本研究中木黴菌之收集、菌株單孢純化及更新工作，謹此致謝。

引用文獻 (Literature cited)

Benitez, T., A. M. Rincon, and A. C. Codon. 2004. Biocontrol mechanism of *Trichoderma* strains. Int. Microbiol. 7:249–260.

Bertagnolli, B. L., S. Daly, and J. B. Singlair. 1998. Antimycotic compounds from the plant pathogen *Rhizoctonia solani* and its antagonist *Trichoderma harzianum*. J. Phytopathol. 88:131–135.

Bhuyan, S. A. 1994. Antagonistic effect of *T. viride*, *T. harzianum* and *Asperigillus terrus* on *Rhizoctonia solani* causing sheath blight of rice. J. Agric. Sci. 7:125–128.

Chen, C. Y. 1998. Biological Control of Soilborne Disease by *Trichoderma* spp. and *Gliocladium* spp. Master Thesis. Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University. 109 pp. (in Chinese with English abstract)

Chu, S. C. 2004. Biological Characteristics of *Gliocladium virens* WJGV2, TLGV22 and the Mass Production of Chlamydospore Formulation for Disease Control. Master Thesis. Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University. 93 pp. (in Chinese with English abstract)

de la Cruz, J., A. Hidalgo-Gallego, J. M., Lora, T. Benitez, J. A. Pintor-Toro, and A. Llobell. 1992. Isolation and Characterization of three chitinases from *Trichoderma harzianum*. Eur. J. Biochem. 206: 859–867.

de la Cruz, J., J. Pintor-Toro, T. Benitez, and A. Llobell. 1995. Purification and characterization of an endo-ß-1,6-glucanase from *Trichoderma harzianum* that is related to its mycoparasitism. J. Bacteriol. 177:1864–1871.

Dennis, C. and J. Webster. 1971. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* I. Production of nonvolatile antibiotics. Trans. Br. Mycol. Soc. 57: 353–369.

El-Katatny, M. H., M. Gudelj, K. H. Robra, M. A. Elnaghy, and G. M. Gubitz. 2001. Characterization of a chitinase and an endo-beta-1,3-glucanase from *Trichoderma harizanum* Rifai T24 involved in control of the phytopathogen *Sclerotium rolfsii*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 56:137–143.

Federico, G. R., M. M. Reynoso, M. Ferez, S. N. Chulze1, and A. M. Torres. 2007. Biological control by *Trichoderma* species of *Fusarium solani* causing peanut brown root rot under field conditions. Crop Prot. 26:549–555.

Germia, A., H. Goldman, D. Jacobs, W. Ardiles, S. Vila, M. Montagu, and A. Herreraestrella. 1993. Molecular characterization of the proteinase-encoding gene, *prbl*, related to mycoparasitism by *Trichoderma harzianum*. Mol. Microbiol. 8:603–613.

Ghisalberti, E. L. 2004. Anti-infective agent produced by the Hyphomycetes genera *Trichoderma* and *Gliocladium*. Med. Chem. Ser. Rev. 1:395–403.

Grinyer, J., L. Kautto, M. Traini, R. D. Willows, J. Te'O, P. Bergquist, and H. Nevalainen. 2007. Proteome mapping of the *Trichoderma reesei* 20S proteasome. Curr. Genet. 51:79–88.

Gurr, S. G., M. J. Mcpherson, and D. J. Bowles. 1992. Molecular Plant Pathology Vol. I. Oxford University Press. New York. 216 pp.

Jong, M. B., R. Charkes, and C. Howell. 1999. The role of extracellular chitinase from *Trichoderma virens* Gv29-8 in the biocontrol of *Rhizoctonia solani*. Curr. Genet. 35:41–43.

Koike, N., M. Hyakumachi, K. Kageyama, S. Tsuyumu, and N. Doke. 2001. Induction of systemic resistance in cucumber against several diseases by plant-growth-promoting fungi: lignification and superoxide generation. Eur. J. Plant Pathol. 107: 523–533.

Kucuk, C. and M. Kivanc. 2003. Isolation of *Trichoderma* spp. and determination of their antifungal, biochemical and physiological features. Turk. J. Biol. 27:247–253.

Lai, P. S. 2003. Evaluation of Genetic Diversity in Soybean Byrandom Amplified Polymorphic DNA Markers. Master Thesis. Graduate Institute of Biotechnology, National Chiayi University. 86 pp. (in Chinese with English abstract)

Lo, C. T., T. F. Liao, and T. C. Deng. 2000. Induction of systemic resistance of cucumber to cucumber green mosaic virus by the root-colonizing *Trichoderma* spp. Phytopathology 90:S47.

Lorito, M., K. Hayes, A. Pietro, L. Woo, and E. Harman. 1994. Purification characterization and synergistic activity of a ß-1,3-glucosidase and an N-acetyl-ß-blucosaminidase from *Trichoderma harzianum.* Phytopathology 84:398–405.

Monte, E. 2001. Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. Int. Microbiol. 4:1–4.

Montero, M., L. Sanz, M. Rey, E. Monte, and A. Llobell. 2005. BGN 16.3, a novel acidic beta-1,6-glucnase from mycoparasitic fungus *Trichoderma harzianum* CECT 2413. FEBS J. 272:3441–3448.

Nguyen, N. V., Y. J. Kim, K. T. Oh, W. J. Jung, and R. D. Park. 2008. Antifungal activity of chitinase from *Trichoderma aureoviride* DY-59 and *Rhizopus microsporus* VS-9. Curr. Microbiol. 56:28–32.

Pozo, M. J., J. M. Baek, J. M. Garcia, C. M. Kenerley. 2004. Functional analysis of tvsp1, a serine protease-encoding gene in the biocontrol agent *Trichoderma virens*. Fungal Genet. Biol. 41: 336–348.

Rightsel, W. A., H. G. Schneider, B. J. Sloan, P. R. Graf, F. A., Miller, Q. R. Bartz, J. Ehrlich, and G. J. Dixon. 1964. Antiviral activity of gliotoxin and gliotoxin acetate. Nature 204:1333–1334.

Sid, A. A., C. Perez-Sanchez, C. Egea, and M. E. Candela. 1999. Evaluation of *Trichoderma harzianum* for

controlling root rot caused by *Phytophthora capsici* in pepper plants. Plant Pathol. 48:58–65.

Wang, M. H. 2006. Antagonistic Activity of *Trichoderma virens* FT-333 against Fungal Pathogens and Antifungal Protein Purification. Master Thesis. Graduate Institute of Biotechnology, National Chiayi University. 83 pp. (in Chinese with English abstract)

Weindling R. 1941. Experimental consideration of the mold toxin of *Gliocladium* and *Trichoderma*. Phytopathology 31:991–1003.

White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequenencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. p.315–322. *in*: PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications. (Innis, M. A., D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White, eds.) Academic Press. New York.

Wilcox, W. F., G. E. Harman, and A. Di Pietro. 1992. Effect of gliotoxin on growth, sporulation, and zoospore motility of seven *Phytophthora* spp. *in vitro*. Phytopathology 82:1121.

Wu, W. S. 1991. Control of sclerotinia rot of sunflower and chrysanthemum. Plant Prot. Bull. 33:45–55.

Yang, H. H., S. L. Yang, K. C. Peng, C. T. Lo, and S. Y. Liu. 2009. Induced proteome of *Trichoderma harzianum* by *Botrytis cinerea*. Mycol. Res. 113:924–932.

Screening of *Trichoderma* spp. from Soils in Taiwan for Antagonism on Fungal Plant Pathogens [1]

Hui-Fang Ni[2], Shu-Li Hsu[2], Ruey-Shyang Chen[3], and Hong-Ren Yang[4,5]

Abstract

Ni, H. F., S. L. Hsu, R. S. Chen, and H. R. Yang. 2010. Screening of *Trichoderma* spp. from soils in Taiwan for antagonism on fungal plant pathogens. J. Taiwan Agric. Res. 59:29–41.

A total of 643 isolates of *Trichoderma* spp. were obtained from rhizosphere soils in central and southern Taiwan. Among them, 301 isolates were assayed *in vitro* for antagonism on the fungal plant pathogens, *Botrytis elliptica*, *Phellinus noxius*, *Sclerotium rolfsii*, and *Phytophthora capcisi*, using for cellophane paper method. Results showed that two of the isolates, Tri-003 and Tri-080, completely suppressed the mycelial growth of these four fungal pathogens. Tri-003 and Tri-080 were further tested for antagonism on seven species of other fungal plant pathogens and the results showed that these two isolates also completely inhibited mycelial growth of *Peronophythora litchi* and *Pythium* sp. Results of the internal transcribed spacer (ITS) of rDNA sequence of Tri-003 and Tri-080 isolates showed a sequence identity of 99% with *Trichoderma virens*. Based on morphological and molecular studies, the identity of both Tri-003 and Tri-080 belongs to *T. virens*. The potential of these two antagonistic isolates of *Trichoderma* for control of plant diseases caused by *Phytophthora* spp., *Pythium* spp., and *Phellinus noxius* warrants further investigations.

Key words: *Trichoderma virens*, Antagonism, Fungal plant pathogens, Biocontrol.

---

1. Contribution No.2396 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: March 9, 2010.
2. Associate Researcher and Head and Assistant, Department of plant protection, Chiayi Agricultural Experiment Branch, TARI, Chiayi, Taiwan, ROC.
3. Associate Professor, Department of Biochemical Science and Technology, National Chiayi University, Chiayi, Taiwan, ROC.
4. Researcher and Director, Chiayi Agricultural Experiment Branch, TARI, Chiayi, Taiwan, ROC.
5. Corresponding author, e-mail: yhr@dns.caes.gov.tw; Fax: (05)2764525.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 59(1):42–48 (2010)

應用試管培養方式評估根腐線蟲在山藥內之繁殖能力[1]

倪蕙芳[2] 賴素玉[2] 許淑麗[2] 張淑芬[3] 楊宏仁[4,5]

摘　要

倪蕙芳、賴素玉、許淑麗、張淑芬、楊宏仁。2010。應用試管培養方式評估根腐線蟲在山藥內之繁殖能力。台灣農業研究 59:42–48。

本研究利用試管培養方式評估根腐線蟲 (*Pratylenchus coffeae*) 在不同山藥品系之繁殖能力。將無菌培養於胡蘿蔔塊根癒傷組織之根腐線蟲母蟲，分別接種於台農 5 號、中埔 018 及杉林 067 三種山藥品系之試管中，置於 25℃ 定溫箱每日 12 小時光照處理 15 週後，測定試管內山藥根系及培養基上線蟲之數量。結果顯示，根腐線蟲在台農 5 號山藥的繁殖量最高，可達每試管 8163 隻，唯在杉林 067 品系則每試管僅有 1551 隻，兩者間具有顯著性差異。此結果與利用溫室盆缽栽培進行根腐線蟲繁殖量測定時所得之結果一致，顯示未來可應用試管培養方式比較根腐線蟲在不同品種 (系) 山藥間之繁殖能力。

關鍵詞：山藥、根腐線蟲、繁殖能力、試管培養。

前　言

山藥 (Yam, *Dioscorea* spp.) 為薯蕷科 (Dioscoreaceae) 之蔓性塊莖類作物，其地下部之塊莖部位可為食用或藥用，依品種特性而有不同。山藥主要分佈在熱帶地區，其中以中南美洲為最多，次為東南亞及非洲，全世界至少有 600 個種 (Kung *et al.* 1999)，在台灣薯蕷屬植物則有 14 個種及 5 個變種 (Liu *et al.* 1996)。

台灣山藥之病蟲害問題，依栽培品種之不同而有相當大之差異性，地上部病害以由 *Colletotrichum gloeosporioides* 引起之葉部及莖部炭疽病為主，嚴重時會造成植物之地上部枯死 (Liu *et al.* 1992; Liu *et al.* 1996)。而地下部病害則以根腐線蟲 (*Pratylenchus coffeae*) (Zimmermann 1898; Filipjev & Schuurmans Stekhoven 1941) 造成之塊莖乾腐病及由根瘤線蟲 (*Meloidogyne* spp.) 造成之塊莖根瘤病兩者為主 (Lin 2006)，此兩種線蟲所造成之病害嚴重度則又依栽培地區土壤性質及品種之差異性而有顯著之不同。根腐線蟲為普遍存在熱帶及亞熱帶地區之植物內寄生性 (endoparasitic) 線蟲，台灣之氣候型態相當適合此一線蟲之繁衍。此種線蟲主要刺食寄主植物地下部之幼嫩根尖，侵入皮層細胞繁殖、潛移，造成根部細胞腐爛死亡，嚴重影響植株生長。根腐線蟲一

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2397 號。接受日期：99 年 3 月 17 日。
2. 本所嘉義分所植物保護系副研究員兼系主任、研究助理、研究助理。台灣　嘉義市。
3. 本所嘉義分所園藝系助理研究員。台灣　嘉義市。
4. 本所嘉義分所研究員兼分所長。台灣　嘉義市。
5. 通訊作者，電子郵件：yhr@dns.caes.gov.tw；傳真機：(05)2764525。

且侵染山藥塊莖時，會引起山藥塊莖表面深淺不一之裂痕，且裂口會有木栓化情形、以手指輕壓會有海棉狀之感覺，其橫切面自表皮往內層會有黑褐色乾腐，乾腐之深度隨山藥品種之不同會有些微之差異。根腐線蟲在田間之傳播方式主要是由種薯帶原傳播，由於此一線蟲會於採收後的山藥塊莖內繼續存活及繁殖，筆者曾經於染病山藥塊莖皮上分離到每公克含有 5000 隻以上之根腐線蟲，因此種薯即可能成為此種線蟲蔓延及遠距傳播之重要因子。另外田間土壤中殘存之線蟲，亦可能為山藥感染根腐線蟲之重要因子。目前本病害之防治在農業試驗所嘉義分所所發展之溫水處理種薯及健康種苗繁殖技術推動下，此病害於田間發生之比率已明顯下降，縱然如此，病害之防治策略仍需多方向進行。

抗病育種是線蟲病害防治的重要方式之一，在波多黎各 (Puerto Rico)，*D. alata* cv. Florido 山藥即被認為是當地對根腐線蟲頗具有抗性之品系 (Siddiqi 1972)；而在田間亦觀察到山藥品種間對此一線蟲之抗感性確實存有極大之差異性，台灣地區具有許多質優高產之品系，值得進一步評估其對根腐線蟲之抗感病性。然而目前面臨之問題在於山藥為一年一收之作物，且田間病原線蟲分佈相當不均勻，所以在進行抗病品種之篩選時，若將所有品系全數於田間進行，將非常耗費時間與人力，因此發展快速而有效之抗病篩選方式實有其必要性。過去已有許多研究利用生體外 (*in vitro*) 篩選方式，進行抗真菌、細菌、線蟲及昆蟲之篩選 (Kang *et al.* 1997; Hidalgo *et al.* 1999; Darling *et al.* 2000)；而有關利用生體外培養技術篩選線蟲在寄主上繁殖能力之報告，已有利用番茄根培養篩選對根瘤線蟲 (*Meloidogyne incognita acrita*, *M. hapla*) 之抗性 (Dropkin & Boone 1996; Dropkin & Webb 1967)、以大豆根培養篩選對胞囊線蟲 (*Heterodera glycines*) 之抗性 (Lauritis *et al.* 1982) 以及利用香蕉之組培探討其品種間對穿孔線蟲 (*Radopholus similis*) 之抗性等研究 (Elsen *et al.* 2002)。本研究擬利用生體外試管培養方式，進行根腐線蟲在不同山藥品種或品系之繁殖力評估，並比較 根腐線蟲在山藥試管培養內及溫室山藥盆栽接種試驗結果，藉以驗證此一方法之可靠性，初步瞭解根腐線蟲在山藥品系或品種之繁殖力差異。

材料與方法

山藥組織培養

取約 2.5 cm 之山藥莖節以無菌水漂洗後，浸入 75%酒精，消毒 1 分鐘後，再以 1%次氯酸鈉 (NaClO) 消毒 20 分鐘，取出於 23%亞托敏 (Azoxystrobin) 水懸劑 250 倍稀釋液中浸泡 1 小時，取出以無菌水清洗 3–4 次後，將莖節置於含 3%蔗糖之 MS (Murashige & Skoog 1962) 培養基 (pH 5.7 ± 0.1) 斜面中，置於 25℃定溫箱，約經 2 個月新根長出後備用。

根腐線蟲之培養

胡蘿蔔癒傷組織的製備：將自市場購買的胡蘿蔔，以 0.5%漂白水浸漬 20 分鐘進行表面殺菌。於無菌操作台中，以過火殺菌後水果刀，橫向切取 0.5 cm 的薄片，再以直徑 0.8 cm 的打孔器挖取含維管束形成層的胡蘿蔔圓盤，置入裝有 B5 培養基 (Gamborg's B5 medium) (Gamborg *et al.* 1968) 的試管斜面上，置於 25℃下，無照光培養，待長出癒傷組織後備用。

根腐線蟲的表面消毒與培養：將感染根腐線蟲的山藥薯皮組織切成薄片，以改良式柏門氏漏斗分離法分離線蟲。於無菌操作台內，利用顯微鏡操作技術，以拉細的玻璃管吸取 50 隻線蟲母蟲，置入含 0.1%孔雀綠 (Malachite green) 殺真菌劑及 0.5%鏈黴素 (Streptomycin sulfate) 殺細菌劑之液體中處理 10 分鐘，再以無菌水漂洗 3 次，最後將消毒完成之蟲體注入已長出胡蘿蔔癒傷組織的試管中，進行無菌培

養以大量繁殖線蟲 (Peng & Moens 1999)。

根腐線蟲在試管培養山藥之繁殖測定

將上述無菌培養之根腐線蟲於解剖顯微鏡下挑取 50 隻母蟲接種於經試管培養已長出植株之山藥台農 5 號 (Tainung No.5)、中埔地方品系 018 (Chungpu 018) 及杉林地方品系 067 (Shanlin 067) 之試管中，接種 15 週後將山藥根系切成根段，待線蟲游出後計算根段中根腐線蟲之繁殖數量。另將培養基倒出，以改良式柏門氏漏斗分離法，計算其在培養基中之線蟲數，藉此觀察根腐線蟲在山藥試管培養根系中及培養基內之繁殖情形，每處理 10 重複。各處理線蟲數經資料轉換後進行顯著性測驗，若達顯著水準，則以費雪最小顯著差異測驗法 (Fisher's Least Significance Test, LSD) 測定 1% 及 5%顯著差異。

根腐線蟲在溫室盆缽山藥之繁殖力測定

將上述品種系之健康山藥薯塊催芽 1 個月後，分別種植於含田土：河砂：泥炭土 =1：1：1 之盆缽 (內徑 21 cm)，待其植株生長 3 週後接種山藥病薯皮。

接種當天，先將罹病山藥之薯皮切碎並充分混合均勻後秤取 20 g 三重複，以改良式柏門氏漏斗分離法分離線蟲，其餘病薯薯皮保濕備用，4 小時後計算平均線蟲數，換算約含 1000 隻根腐線蟲所需山藥病薯薯皮之量，接種在山藥根群周圍。

於接種後 7 個月調查盆栽每百克土壤中線蟲之含量 (Ni *et al.* 2007)，每處理 5 重複。各處理線蟲數經資料轉換後進行顯著性測驗，若達顯著水準，則進行費雪最小顯著差異測驗法 (Fisher's Least Significance Test, LSD) 測定 1% 及 5%顯著差異。

結　　果

山藥組織培養及根腐線蟲生體外培養

利用 MS 培養基，切取山藥 Tainung No.5 莖節進行山藥之試管內培養，經培養 60 天後，山藥植株在試管內可以順利生長出根系及葉片 (圖 1A)。另外在根腐線蟲之無菌生體外培養，經蟲體表面消毒之線蟲接種於胡蘿蔔圓盤癒傷組織後，根腐線蟲感染癒傷組織造成癒傷組織褐化 (圖 1B)；當繁殖量較多時，可在試管壁上觀察到大量蟲體存在。

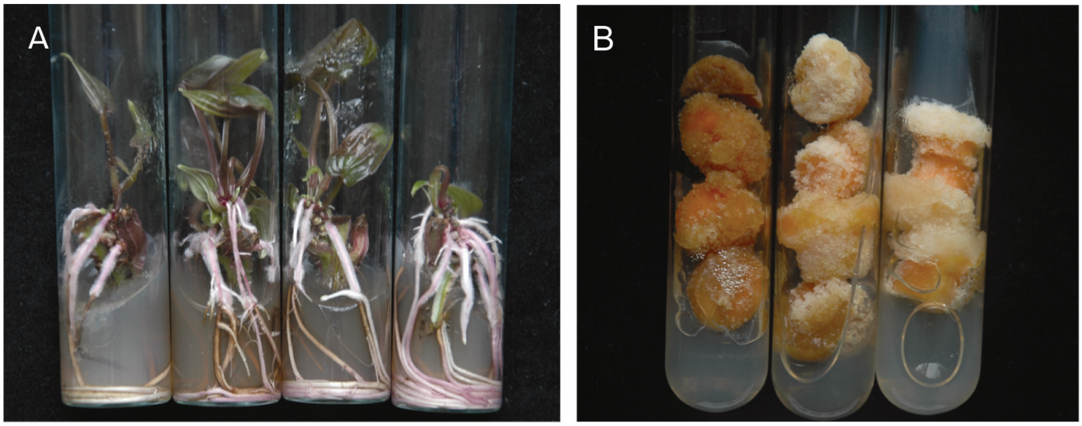


圖 1. 山藥台農 5 號及根腐線蟲之試管培養。(A) 台農 5 號山藥於 B5 培養基中培養 2 個月；(B) 根腐線蟲培養於胡蘿蔔癒傷組織。

Fig. 1. *In vitro* cultures of yam cv. Tainung No.5 on B5 medium for 2 months (A) and *Pratylenchus coffeae* on calli of carrot (B).

根腐線蟲在不同品種山藥試管培養之繁殖力測定

利用山藥 Tainung No.5、Chungpu 018 及 Shanlin 067 進行試管培養再進行根腐線蟲抗性篩選。Tainung No.5 山藥，線蟲接種 15 週後在試管內可以繁殖為原接種量之 163 倍；而 Shanlin 067 山藥，線蟲僅繁殖為原來的 31 倍，與線蟲在 Tainung No.5 山藥之繁殖量具有顯著性差異 ($P < 0.05$) (表 1)。而 Chungpu 018 山藥其線蟲平均繁殖量雖次於 Tainung No.5 山藥，為原線蟲接種量的 95.5 倍，但是在統計上線蟲在 Tainung No.5 山藥及 Chungpu 018 山藥之繁殖量並無顯著差異。

根腐線蟲在溫室盆缽栽培之不同山藥品種之繁殖力測定

線蟲接種於溫室盆缽栽培的不同山藥品種中，結果顯示，根腐線蟲在 Chungpu 018 山藥內之繁殖量為每百克土壤 3236 隻，而在 Shanlin 067 山藥之繁殖量最低，每百克土壤線蟲量平均僅為 1642 隻，但 Tainung No.5 山藥之繁殖量最高，達每百克土壤平均 7242 隻根腐線蟲，線蟲在此 3 種不同之品種系山藥中其繁殖量具有顯著性差異 ($P < 0.05$) (表 2)。

討　論

山藥在台灣之栽培受限於地下部根腐線蟲之影響，常造成農友相當大之損失，也使得山藥塊莖的儲藏受到極大之限制性，目前並未推薦殺線蟲劑之施用，利用中興大學蔡東纂教授發展之 LT-M 有機添加物置於山藥穴管中亦為一可行之非農藥防治方式，然其缺點為其成本較高。農試所嘉義分所利用健康種苗及田間衛生，則能經濟有效解決線蟲為害。但根本解決之道是育成對根腐線蟲具有抗性、栽培性狀良好之山藥品種，然而進行植物對根腐線蟲之抗性篩選工作並不容易，主要該線蟲於田間分佈之密度並不均一，且線蟲活力不易掌握。為此，本研究於試管培養情形下，模擬根腐線蟲與寄主植物之交互作用，先評估其在山藥之繁殖力。本研究在利用山藥試管培養進行根腐線蟲之繁殖測定時，首先需克服線蟲無菌培養及山藥試管培養兩大問題。根腐線蟲之無菌培養參照 Stoffelen *et al.* (1999) 與 Peng & Moens (1999) 所發展之根腐線蟲 *P. penetrans* 表面消毒方式，將由山藥分離之根腐線蟲 置於孔雀綠和鏈黴素之液體中處理 10 分鐘，確實可以大幅度減低無菌培養試管之污染機率，較易成功繁殖無雜菌污染之線蟲，以利後續試驗之所需。另外山藥之試管培養，最好以生長旺盛期之山藥莖節進行，且必需先使用亞托敏殺真菌劑浸泡莖節去除莖節內外之真菌，以減少試管內污染之發生，若只用次氯酸鈉消毒，其污染率仍非常高，其原因可能在於

表 1. 根腐線蟲在 3 個不同品種之山藥生體外試管培養中繁殖之差異

Table 1. Reproduction of *Pratylenchus coffeae* on three yam varieties grown under *in vitro* conditions

Yam variety or line	Roots				Medium				P_f [y]	R_r [x]
	Juveniles	Females	Males	Total	Juveniles	Females	Males	Total		
cv. Tainung No.5	2336 a [z]	960 a	510 a	3806 a	3845 a	296 a	216 a	4357 a	8163 a	163.3
Line Chungpu 018	1436 a	305 a	276 a	2017 a	2285 a	243c	231ab	2759 a	4776 a	95.5
Line Shanlin 067	296 b	74 b	116 b	486 b	853 b	121 b	91 b	1065 b	1551 b	31.0

[z] Data were log (x + 1) transformed prior to statistical analysis. Means within the same column followed by the same letter do not significantly differ according to the LSD test ($P < 0.05$).
[y] final population of *P. coffeae* in roots and medium.
[x] $R_r = P_f/P_i$ (with P_i = 50 females).

表 2. 根腐線蟲在溫室盆缽栽培之 3 種山藥根系中之繁殖差異

Table 2. Reproduction of *P. coffeae* on roots of three yam cultivars or lines planted in the soil in pots under greenhouse conditions

Yam cultivar or line	No. of *P. coffeae*/plant
cv. Tainung No. 5	7242 a [z] (4080–10110) [y]
Line Chungpu 018	3236 b (1960–4800)
Line Shanlin 067	1642 c (580–3940)

[z] Data were log (x + 1) transformed prior to statistical analysis. Means within the column followed by the same letter do not significantly differ according to the LSD test ($P < 0.05$).
[y] Number in bract is range of *P. coffeae.*

山藥莖節內有內生真菌存在，利用次氯酸鈉進行表面消毒顯然無法深入莖節內部，利用滲透力較強之亞托敏藥劑處理則可以有效降低組培試管之污染率。在調查根腐線蟲在山藥試管內之繁殖量時需同時計數山藥根系及培養基內之線蟲，因為根腐線蟲雖然為內寄生潛移性線蟲，然此線蟲在試管內可能因為根系養份之消耗，線蟲亦會移行至培養基中，因此在本研究探討根腐線蟲之繁殖量時必需一併計算培養基中線蟲之含量，此與利用香蕉試管培養篩選抗穿孔線蟲品系之研究方法類似 (Elsen *et al.* 2002)。

爲比較根腐線蟲在試管培養及溫室盆栽山藥中之繁殖力差異性，另將山藥薯塊催芽後，再放至盆缽種植待長成植株後，再進行線蟲之接種，此法於接種後至少需 3 個月以上才能繁殖足量之線蟲用以評估土壤中線蟲之含量，以進行繁殖力評估 (Ni *et al.* 2007)，此法之缺點除了試驗受限於山藥適當栽培之時間 (約為每年 3–5 月)，另外必需同時具有足夠線蟲活力之病薯皮以供接種，重要的是必需要有相當大的空間進行山藥之栽培及人力進行管理，試驗結果必需以柏門氏漏斗法評估土壤中線蟲之繁殖量，流程相當繁鎖，耗費的時間相對也較長。然而利用山藥試管培養進行根腐線蟲在不同山藥品種 (系) 之繁殖力測定，則由於整個試驗是在溫度、光線及培養基均受到嚴格控管之條件下進行，且山藥之試管培養並不受栽培季節限制，可以循環更新，試驗時間較為彈性，此外，整個試驗所需之空間也相對較小，重複數可以增加，減少試驗之誤差。過去利用植物生體外培養進行線蟲抗性之探討已有諸多報告可供參考，如 Elsen *et al.* (2002) 曾利用香蕉之試管培養進行抗穿孔線蟲香蕉品種之篩選，而且其所篩選之品種抗線蟲特性於田間試驗及溫室盆栽試驗時亦與試管培養亦具有一致性之結果。Franks *et al.* (2003) 亦於葡萄之試管培養中探討不同品種對根瘤線蟲 (*M. javanica*) 之抗感性，可迅速獲得可以做為抗根瘤線蟲根砧之資訊。因此本研究基於前人之相關研究及利用試管培養之優點，將山藥 Tainung No.5、Chungpu 018 及 Shanlin 067 分別進行根腐線蟲在試管內及溫室之繁殖力差異比較，以評估未來利用試管培養山藥進行根腐線蟲抗感性篩選之可行性。試驗結果顯示，根腐線蟲不論是在山藥試管內或溫室盆缽內試驗，其在山藥 Tainung No.5 之繁殖量均最高，因此線蟲可以在其植株上大量繁殖，反之，線蟲在 Shanlin 067 中之繁殖量最低，此兩種評估方式所得結果之一致性，顯示未來進一步利用山藥試管培養進行線蟲抗性之評估應該具有其可行性。

在利用山藥試管進行線蟲篩選時，需注意培養線蟲之活力，因為活力不佳之線蟲會影響其對山藥之感病性評估，而胡蘿蔔又為線蟲培養之唯一食物來源，因此在利用胡蘿蔔進行線蟲之無菌培養時，需考量胡蘿蔔之新鮮度，接種源線蟲之活力以及嚴格控制培養之條件，以得到活力較佳之無菌培養線蟲，而同一比較試驗必須儘量使用同一批線蟲，以維持實驗結果之一致性。

綜言之，本研究所建立之利用山藥試管培養進行根腐線蟲繁殖力之評估，未來可進一步瞭解其是否與抗感病性相關，或許可以作為未

來山藥育種時抗感病性初步篩選之方法，藉以降低溫室試驗及田間試驗之規模，以達到省時及省力之目的。

誌　　謝

本文承黃鴻章教授協助文章之修正，特此致謝。

引用文獻 (Literature cited)

Darling, D., R. Harling, R. A. Simpson, N. McRoberts, and E. A. Hunter. 2000. Susceptibility of broccoli cultivars to bacterial head rot: *in vitro* screening and the role of head morphology in resistance. Eur. J. Plant Pathol. 106:11–17.

Dropkin, V. H. and W. R. Boone. 1996. Analysis of host-parasite relationships of root-knot nematode by single-larva inoculations of excised tomato roots. Nematologica 12:225–236.

Dropkin, V. H. and R. E. Webb. 1967. Resistance of axenic tomato seedlings to *Meloidogyne incognita acrita* and to *M. hapla.* Phytopathology 57: 584–587.

Elsen, A., R. Stoffelen, N. T. Tuyet, H. Baimey, H. D. de Boulois, and D. D. Waele. 2002. *In vitro* screening for resistance to *Radopholus similis* in *Musa* spp. Plant Sci. 163:407–416.

Franks, T. K., S. Savocchia, and R. V. Heeswijck. 2003. *In vitro* systems for studying the interaction of root-knot nematode with grapevine. Nematology 5:235–242.

Gamborg, O. L., R. A. Miller, and K. Ojima. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Exp. Cell Res. 50:151–158.

Hidalgo, O. B., R. Santos, R. T. Tussel, A. Pires de Matos, R. S. Cabral, M. Arzola, and C. Perez. 1999. Phytotoxicity of *Fusarium subglutinans* culture filtrates on *in vitro* plantlets and calli of resistant and susceptible pineapple (*Ananas comosus*). Plant Pathol. 48:756–758.

Kang, H., R. B. Hall, S. A. Heuchelin, H. S. McNabb, Jr., C. W. Mize, and E. R. Hart. 1997. Transgenic *Populus*: *in vitro* screening for resistance to cottonwood leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). Can. J. For. Res. 27:943–944.

Kung, T. L., S. T. Wu, and F. S. Thseng. 1999. Variation of plant characteristics of wild yam *Dioscorea pseudojaponica* and *D. doryophora* in Taiwan. Bull. Taoyuan Dist. Agric. Impro. Sta. No. 37: 1–13. (in Chinese with English abstract)

Lauritis, J. A., R. V. Rebios, and L. S. Graney. 1982. Screening soybean for resistance to *Heterodera glycines* Ichinohe using monoxenic cultures. J. Nematol. 14:593–594.

Lin, G. C. 2006. The Occurrence, Identification and Quarantine Control of Yam Nematode Diseases in Taiwan. Master Thesis. Department of Plant Pathology, National Chung Hsing University. 61 pp. (in Chinese with English abstract)

Liu, S. Y., J. Y. Wang, Y. T. Shyu, and C. H. Duan. 1992. The development and adaptability of *Dioscorea alata* L. cv. Tainung No.1. J. Agric. Res. China 41:140–158. (in Chinese with English abstract)

Liu, S. Y., J. Y. Wang, Y. T. Shyu, M. F. Hu, H. R. Yang, and C. C. Ho. 1996. The development of yam new variety Tainung No.2. J. Agric. Res. China 45: 260–284. (in Chinese with English abstract)

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant 15:473–497.

Ni, H. F., S. L. Hsu, and H. R. Yang. 2007. Evaluation of different method for inoculation for *Pratylenchus coffeae* on yam. J. Taiwan Agric. Res. 56:99–106. (in Chinese with English abstract)

Peng, Y. and M. Moens. 1999. Effects of surface sterilization and cold storage on *in vitro* behaviour of *Pratylenchus penetrans*. Nematology 1:647–653.

Siddiqi, M. R. 1972. *Pratylenchus coffeae*. C. I. H. Descriptions of Plant Parasitic Nematodes. Set 1, No.6. Commonwealth Institute of Helminthology Pub. St. Albeans, Herts, England. 330 pp.

Stoffelen, R., M. I. Jimenez, C. Dierckxsens, V. T. T. Tam, R. Swennen, and D. De.Waele. 1999. Effect of time and inoculum density on the reproductive fitness of *Pratylenchus coffeae* and *Radopholus similis* populations on carrot disks. Nematology 1:243–250.

Evaluation of Reproduction of *Pratylenchus coffeae* on Yam (*Dioscorea* spp.) *in vitro* Culture [1]

Hui-Fang Ni[2], Su-Yu Lai[2], Shu-Li Hsu[2], Shu-Fen Chang[3], and Hong-Ren Yang[4,5]

Abstract

Ni, H. F., S. Y. Lai, S. L. Hsu, S. F. Chang, and H. R. Yang. 2010. Evaluation of reproduction of *Pratylenchus coffeae* on yam (*Dioscorea* spp.) *in vitro* culture. J. Taiwan Agric. Res. 59:42–48.

Pratylenchus coffeae is a major pathogenic nematode causing severe yield losses of yam (*Dioscorea* spp.) in Taiwan. The objective of this study was to evaluate reproduction of *P. coffeae* on yam *in vitro* culture. Female *P. coffeae* cultured on carrot callus tissues were inoculated on yam roots, cv. Tainong No.5, Chungpu 018, and Shanlin 067 in test tubes. After incubation at 25℃ under a 12 h light-12 h dark regime for 15 weeks, number of nematodes in each tube was determined. Results showed that population of *P. coffeae* differed significantly ($P < 0.05$) among the yam cultivars, high (8163 nematodes) in cv. Tainong No.5 and low (1551 nematodes) in cv. Shanlin 067. The difference in population of *P. coffeae* between cv. Tainong No.5 and cv. Shanlin 067 was further confirmed by the inoculation of plants grown in pots under greenhouse conditions. This study suggests that the *in vitro* culture method is useful for testing yam cultivars or lines for population dynamics of *P. coffeae*.

Key words: Yam, *Dioscorea* spp., Nematode, *Pratylenchus coffeae*, Reproduction, *In vitro* culture.

---

1. Contribution No.2397 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: March 17, 2010.
2. Respectively, Associate Researcher and Head, Research Assistant, Research Assistant, Department of Plant Protection, Chiayi Agriculture Experiment Branch, TARI, Chiayi, Taiwan, ROC.
3. Assistant Researcher, Department of Horticulture, Chiayi Agriculture Experiment Branch, TARI, Chiayi, Taiwan, ROC.
4. Researcher and Director, Chiayi Agriculture Experiment Branch, TARI, Chiayi, Taiwan, ROC.
5. Corresponding author, e-mail: yhr@dns.caes.gov.tw; Fax: (05)2764525.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 59(1):49–60 (2010)

金屬離子與誘引劑處理對丹參毛狀根生長與丹參酮累積之影響 [1]

陳威臣[2] 李秋儀[2] 詹効松[3] 曹進義[2] 夏奇鈮[2,4]

摘　　要

陳威臣、李秋儀、詹効松、曹進義、夏奇鈮。2010。金屬離子與誘引劑處理對丹參毛狀根生長與丹參酮累積之影響。台灣農業研究 59:49–60。

本研究以丹參 (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) 毛狀根為材料，測試在液態培養中添加金屬離子與誘引劑 (elicitors) 對毛狀根生長與丹參酮 (tanshinones) 累積之影響。添加銅、鐵、錳及鈷金屬離子之試驗結果顯示，除鈷離子對毛狀根乾重未達顯著促進效果外，鐵、錳及銅離子的添加皆有利於毛狀根乾重增加；適當濃度之鐵、錳及鈷離子可促進毛狀根之丹參酮累積，其中以 100 μM 鐵離子處理效果最佳，丹參酮總產量可達對照組之 1.8 倍。誘引劑處理顯示添加酵母誘引劑、茉莉酸及離層酸對毛狀根生長無不良影響，且除水楊酸處理外，皆可促進丹參酮含量的累積，其中以 2 mg/L 離層酸處理之丹參酮含量為對照組的 3.4 倍效果最佳。進一步測試以不同濃度離層酸配合處理時間的結果顯示，三種濃度 (1、2、4 mg/L) 離層酸處理均可促進丹參酮含量累積，其中以 1 mg/L 離層酸處理 3 週後之效果最佳，丹參酮累積達 22.9 mg/L，促進效果主要在於隱丹參酮與丹參酮 IIA 含量的增加。

關鍵詞：丹參、金屬離子、誘引劑、離層酸、酵母誘引劑、二次代謝物、丹參酮。

前　　言

丹參 (*Salvia miltiorrhiza*) 為唇形科 (Labiatae) 多年生草本植物，其根部具有活血化瘀的功效，係神農本草經上品藥材，為治療心血管疾病之重要中藥 (Tang & Eisenbrand 1992)。丹參酮 I (tanshinone I; TanI)、丹參酮 IIA (tanshinone IIA; Tan IIA) 及隱丹參酮 (cryptotanshinone; Crypto) 為丹參藥材中主要脂溶性之有效成分 (Hu *et al*. 2005; Li *et al*. 2002)；現代藥理研究證實，丹參酮具有抗腫瘤、抗氧化、抗菌、抗過敏、免疫調節功能提升、治療缺血性疾病與急性心肌梗塞、抑制血小板凝集等作用，臨床治療之應用潛能極高 (Hu *et al*. 1999; Lin *et al*. 2003; Park *et al*. 1999; Tang & Eisenbrand 1992) 。

利用植物細胞、組織與器官培養方式獲取培養物之有效活性成分，具有不受天候影響、

---

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2398 號。接受日期：99 年 3 月 17 日。
2. 本所生物技術組助理研究員、計畫助理、聘用助理研究員及副研究員。台灣 台中縣 霧峰鄉。
3. 朝陽科技大學生化科技所助理教授。台灣 台中縣 霧峰鄉。
4. 通訊作者，電子郵件：hsia@tari.gov.tw；傳真機：(04)23302806。

提高二次代謝物產率與縮短培養週期等諸多優點；此外，藉由改善培養基組成分、添加前驅物與誘引劑及利用反應器培養等策略，經由放大培養規模可大量獲得重要二次代謝物，具有商業開發之潛力 (Bourgaud *et al*. 2001; Georgiev *et al*. 2007; Kim *et al*. 2002; Radman *et al*. 2003; Zhao *et al*. 2005; Zhong 2001)。近年來，利用轉殖毛狀根培養應用於二次代謝物生產，相較於細胞培養策略，毛狀根具有遺傳穩定性高及產率較高之優點 (Bourgaud *et al*. 2001; Hamill & Lidgett 1997; Hu & Du 2006; Zhang *et al*. 2005)。毛狀根培養生產二次代謝物並可藉由添加生物性 (biotic) 或非生物性 (abiotic) 誘引劑等處理，促進毛狀根的藥用成分大量累積 (Hu & Du 2006; Georgiev *et al*. 2007; Radman *et al*. 2003; Zhang *et al*. 2005; Zhao *et al*. 2005)；前者如真菌或細菌類誘引劑 (fungal or bacterial elicitors) (Ge & Wu 2005b; Pitta-Alvarez *et al*. 2000; Shi *et al*. 2007; Yan *et al*. 2005, 2006a)；後者如乾旱、高鹽、受傷等環境因子和金屬離子 (Cd^{2+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Ag^{+}等) (Ge & Wu 2005b; Pitta-Alvarez *et al*. 2000; Yan *et al*. 2006a)；此外，許多訊息傳導物質 (transduction signal) 及其衍生物，如水楊酸 (salicylic acid, SA)、茉莉酸 (jasmonic acid, JA)、茉莉酸甲酯 (methyl jasmonic acid, MJ)、離層酸 (abscisic acid, ABA) 等物質也具有促進二次代謝物累積的效果 (Kang *et al*. 2004; Ge & Wu 2005a; Wang *et al*. 2007)；然而亦有部份報告之結果顯示，施用誘引劑常會抑制毛狀根生長 (Ge & Wu 2005a; Guo *et al*. 2005; Kang *et al*. 2004; Pitta-Alvarez *et al*. 2000; Yan *et al*. 2006a)。

目前，藉由丹參毛狀根培養生產丹參酮已有相當的報導 (Chen *et al*. 2001; Ge & Wu 2005a, 2005b; Guo *et al*. 2005; Hu & Alfermann 1993, 1999; Shi *et al*. 2007; Wang *et al*. 2007; Yan *et al*. 2005, 2006a)。本研究室利用已建立之丹參毛狀根固態培養系統 (Lin 2005)，並以液態培養繁殖毛狀根生產丹參酮，惟丹參酮類生產效率仍待提高 (Chen *et al*. 2008)。因此，本研究以添加生物性酵母誘引劑 (yeast elicitor, YE) 與非生物性之金屬離子、茉莉酸 (JA) 與離層酸 (ABA)，探討其施用濃度及時間對丹參毛狀根生長與丹參酮累積之影響，作為建立丹參毛狀根大量培養生產丹參酮系統之重要參考依據。

材料與方法

丹參毛狀根培養

本試驗所用之毛狀根為農桿根群菌 (*Agrobacterium rhizogenes*, R1601) 感染丹參 (*S. miltiorrhiza*) 無菌瓶苗葉片所得 (Lin 2005)。毛狀根培養於含有 3%蔗糖之 B5 (Gamborg *et al*. 1968) 固態培養基，於 25℃ ± 1℃恆溫、黑暗環境靜置培養 4 週後，切取根尖 (長約 1.5 cm) 作為液態培養試驗接種材料。

培養基製作與培養環境

固態培養基在加入 9 g/L Bacto-agar (Difco, U.S.A.) 前先以 0.1–1 N NaOH 及 HCl 將 pH 值調至 5.7 ± 0.1，液態培養基之成分相同於固態培養基，但不添加凝膠物質，且 pH 值調為 5.2 ± 0.1。培養基以 121℃、15 lb/in^2 (1.05 kg/cm^2) 進行高溫高壓滅菌 15 分鐘後冷卻備用。液態培養於 250-mL 錐形瓶注入 40 mL B5 培養液，每瓶接種 10 個根尖培植體，每處理接種 3 瓶，於 25℃、暗培養環境、以 80 rpm 速度之水平迴轉振盪器振搖培養。

誘引劑溶液之製備

酵母誘引劑 (yeast elicitor, YE) 係以 25 g yeast extract powder (酵母抽出物粉末，USB, USA) 溶於 125 mL 純水後加入 100 mL 甲醇 (methanol)，置於 4℃冰箱 4 天後，移除上層液，沉澱物再重複上述步驟 2 次後，加入 50 mL 純

水後備用 (Hahn *et al*. 1978) 。水楊酸 (salicylic acid, SA; Sigma)、茉莉酸 (jasmonic acid, JA; Sigma) 及離層酸 [(±)-abscisic acid, ABA; Sigma] 以 95%乙醇 (ethyl alcohol) 溶解後，再加入純水配製成 400 mg/L 溶液，以 0.45 μm 濾膜 (Millipore，日本) 過濾備用。

金屬離子對毛狀根乾重與丹參酮累積之影響

毛狀根振搖培養至第 4 週時，於培養液中添加 $CoCl_2$、$CuSO_4$、$FeSO_4$與 $MnSO_4$溶液，使培養液中各金屬離子最終濃度分別為 2.5、5 μM Co^{2+}，2.5、5 μM Cu^{2+}，50、100 及 200 μM Fe^{2+}，30、60 及 120 μM Mn^{2+}，再經 4 週振搖培養後，調查毛狀根乾重與丹參酮含量。

誘引劑處理對毛狀根乾重與丹參酮累積之影響

毛狀根振搖培養達 8 週時，於培養液中加入誘引劑溶液，使培養液中誘引劑之終濃度分別為 1.875 mg/L JA、400 mg/L SA、400 mg/L YE 及 2 mg/L ABA，繼續培養 2 週後收獲調查。

離層酸濃度處理對毛狀根生長與丹參酮累積之影響

毛狀根振搖培養達 8 週時，於培養液中添加 ABA 溶液，使其在培養液中之終濃度分別為 1、2 與 4 mg/L，持續培養 1、2、3 及 4 週後分別收獲調查。

毛狀根乾重與丹參酮含量分析

毛狀根乾重、檢品製備與丹參酮之 HPLC 分析係依據 Chen *et al*. (2008) 之方法。簡述如下：毛狀根乾重係將毛狀根於 45℃烘箱乾燥 2 天所得重量。乾燥毛狀根經研磨後，以二氯甲烷 (dichloromethane)：甲醇 ＝1：4 混合溶劑萃取兩次，合併濾液以真空減壓濃縮機 (EYELA，日本) 濃縮，再以甲醇定容後以 0.45 μm 濾膜過濾，以 HPLC 法分別檢測丹參酮 I (Tanshinone I, Tan I)、丹參酮 IIA (Tanshinone IIA, Tan IIA) 與隱丹參酮 (Cryptotanshinone, Crypto) (丹參酮類標準品購自九鼎生技，台灣)。萃取分析所使用之溶劑，均使用 Merck (美國) 公司 LC 級試劑。

資料收集與統計分析

試驗採用完全逢機設計 (Completely Randomized Design, CRD) 設計，每處理 3 重複，毛狀根乾重與丹參酮含量係取自同批培養 3 瓶毛狀根之平均值。所得資料經 SAS 8.2 (SAS Institute Inc. 2001) 套裝統計分析軟體進行變方分析 (ANOVA)，若處理效應顯著 ($p < 0.05$)，則進而利用最小顯著性差異 (least significance difference, LSD) 測驗比較各處理平均值間之差異。

結　果

金屬離子對毛狀根乾重與丹參酮累積之影響

表 1 結果顯示，4 種金屬離子中以添加 Cu^{2+}處理之丹參毛狀根乾重最高，Fe^{2+}與 Mn^{2+}處理次之，Co^{2+}與對照組最低；而毛狀根中隱丹參酮 (Crypto)、丹參酮 I (Tan I) 與丹參酮 IIA (Tan IIA) 之總量 (簡稱丹參酮含量) 的累積，則是以添加 2.5、5 μM Co^{2+}處理最高，分別達到 6.9、6.5 mg/g，100 μM Fe^{2+}處理次之，60 μM Mn^{2+}再次之，但均高於對照組之 4.46 mg/g。在總產量方面則以 2.5 μM Co^{2+}與 100 μM Fe^{2+}處理最高，分別達到 42、46 mg/L，其次為 60 μM Mn^{2+}處理。所有金屬離子濃度之添加均較對照組為高，僅 2.5 μM Cu^{2+}相似於對照組。此外，2.5 μM Co^{2+}與 100 μM Fe^{2+}處理促進丹參酮累積之效果，主要均為 Crypto 含量的增加，分別可達對照組的 1.5 與 1.8 倍。各金屬離子添加處理之毛狀根生長情形如圖 1 所示，在毛狀根生長量、毛狀根顏色與培養液顏色的表現均有差異，毛狀根外觀紅色較深者經 HPLC 分析顯示，其丹參酮含量亦較高。

表 1. 添加金屬離子對丹參毛狀根乾重與丹參酮含量的影響

Table 1. Influence of metal ions on dry weight and tanshinone production of *Salvia miltiorrhiza* hairy root culture

Treatment (μM) [z]	Dry weight (g/L)	Tanshinones [x] (mg/g dw)				Yield (mg/L)
		Crypto	Tan I	Tan IIA	SUM	
Control	5.58 ± 0.144 d [y]	2.47 ± 0.022 b	1.17 ± 0.031 d	0.82 ± 0.031 c	4.46 ± 0.084 d	24.89 ± 1.078 f
Co^{2+} (2.5)	6.08 ± 0.629 cd	4.47 ± 0.016 a	1.55 ± 0.009 a	0.89 ± 0.005 b	6.91 ± 0.030 a	42.02 ± 4.230 a
Co^{2+} (5.0)	4.33 ± 1.433 e	4.11 ± 0.003 a	1.48 ± 0.032 a	0.85 ± 0.013 b	6.45 ± 0.048 a	27.93 ± 9.307 e
Cu^{2+} (2.5)	10.67 ± 0.382 a	0.92 ± 0.020 e	0.50 ± 0.037 e	0.68 ± 0.002 d	2.09 ± 0.057 f	22.31 ± 0.617 f
Cu^{2+} (5.0)	10.50 ± 0.500 a	0.60 ± 0.017 f	0.37 ± 0.015 f	0.27 ± 0.001 e	1.24 ± 0.032 g	13.02 ± 0.831 g
Fe^{2+} (50)	8.32 ± 0.012 b	1.99 ± 0.008 c	1.04 ± 0.005 cd	0.79 ± 0.004 c	3.82 ± 0.017 e	30.77 ± 0.140 d
Fe^{2+} (100)	8.29 ± 0.016 b	3.59 ± 0.002 ab	1.32 ± 0.001 ab	0.90 ± 0.001 b	5.81 ± 0.005 b	45.86 ± 1.410 a
Fe^{2+} (200)	8.51 ± 0.028 b	1.92 ± 0.003 d	0.85 ± 0.001 d	0.60 ± 0.001 d	3.37 ± 0.004 e	27.15 ± 0.820 e
Mn^{2+} (30)	8.02 ± 0.020 bc	2.14 ± 0.001 c	1.26 ± 0.002 bc	0.95 ± 0.001 a	4.35 ± 0.001 d	34.79 ± 1.090 c
Mn^{2+} (60)	7.53 ± 0.010 c	2.70 ± 0.006 b	1.31 ± 0.004 ab	0.95 ± 0.003 a	4.96 ± 0.013 c	38.21 ± 0.100 b
Mn^{2+} (120)	7.86 ± 0.026 bc	2.05 ± 0.007 c	1.10 ± 0.003 cd	0.77 ± 0.002 c	3.92 ± 0.012 e	31.14 ± 2.180 d

[z] Hairy root of *Salvia miltiorrhiza* was cultured on liquid B5 medium for 4 weeks at 80 rpm shaking speed condition, and then treated with various concentration of cobalt ion (Co^{2+}), copper ion (Cu^{2+}), iron ion (Fe^{2+}), and manganese ion (Mn^{2+}) for an additional 4 weeks of culture.

[y] Values are mean ± SE of three samples. Means with different letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$) by least significance difference test.

[x] Tanshinones include cryptotanshinone (Crypto), tanshinone I (Tan I), and tanshinone IIA (Tan IIA). SUM is the total content summing up of Crypto, Tan I and Tan II A.

誘引劑處理對毛狀根乾重與丹參酮累積之影響

不同誘引劑添加試驗結果如表 2 所示，誘引劑處理組在乾重上與對照組無顯著差異，顯示四種誘引劑處理對毛狀根生長無不良影響。誘引劑處理組之丹參酮含量為 0.51–2 mg/g dw；其中茉莉酸、酵母誘引劑及離層酸處理之丹參酮單位含量均高於對照組，其中離層酸單位含量約為對照組的 3.4 倍最佳；而茉莉酸與酵母誘引劑則分別約為對照組的 1.8 及 1.5 倍次之，水楊酸處理對於丹參酮累積則無效果。在丹參酮總產量方面，茉莉酸、酵母誘引劑及離層酸處理組均明顯高於對照組。圖 2 (A1–F1) 為誘引劑處理前之毛狀根生長情形，而圖 2 之 C2–F2 可明顯看出添加誘引劑後培養液紅色加深的現象，而圖 2 之 A2 與 B2 為分別加入純水與 2%乙醇之對照組，在顏色表現方面與未添加純水與乙醇前相比較並無明顯不同。

離層酸處理濃度對毛狀根生長與丹參酮累積之影響

於添加 1、2 及 4 mg/L ABA 後 1–4 週收穫毛狀根調查之結果如圖 3 顯示，就乾重而言，ABA 處理組間在添加處理後 1–4 週之毛狀根乾重約為 3.5–4.7 g/ L 之間，處理組間差異並不顯著，但均較對照組為低，且在 ABA 處理後第 3 週時之差異達顯著水準，第 4 週時則 ABA 處理間已無顯著差異，但仍均高於對照組。若就丹參酮單位含量而言，在 ABA 處理後 1–3 週時，1 mg/L ABA 處理對於丹參酮累積效果最佳，在 ABA 處理後第 3 週時可達 5.1 mg/g，且顯著高於 2、4 mg/L ABA 處理與對照組。在丹參酮總產量方面，1、2 及 4 mg/L ABA 處理在

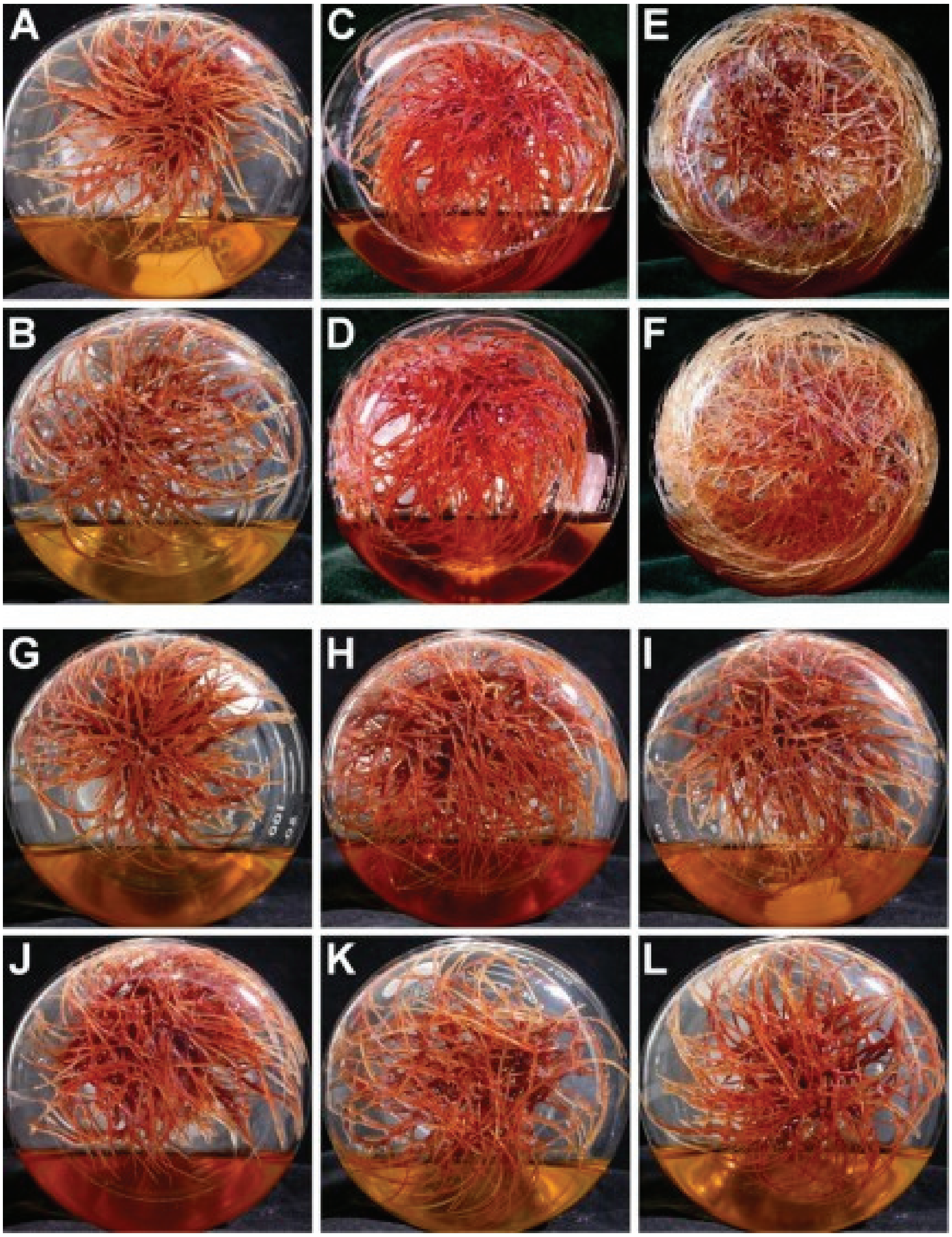


圖 1. 鈷、銅、鐵與錳離子對丹參毛狀根生長與丹參酮累積之影響。

Fig. 1. Influence of cobalt ion (Co^{2+}), copper ion (Cu^{2+}), iron ion (Fe^{2+}), and manganese ion (Mn^{2+}) on growth and tanshinone production of *Salvia miltiorrhiza* hairy root culture. Hairy root was cultured on a liquid B5 medium for 4 weeks at 80 rpm shaking speed in the dark (A), and then treated with 0 μM (B), 2.5 μM Co^{2+} (C), 5 μM Co^{2+} (D), 2.5 μM Cu^{2+} (E), 5 μM Cu^{2+} (F), 50 μM Fe^{2+} (G), 100 μM Fe^{2+} (H), 200 μM Fe^{2+} (I), 30 μM Mn^{2+} (J), 60 μM Mn^{2+} (K), and 120 μM Mn^{2+} (L) for an additional 4 weeks of culture.

表 2. 酵母誘引劑、茉莉酸、水楊酸及離層酸對丹參毛狀根乾重與丹參酮含量的影響

Table 2. Influence of yeast elicitor, jasmonic acid, salicylic acid, and abscisic acid on dry weight and tanshinone production of *Salvia miltiorrhiza* hairy root culture

Treatment (weeks) [z]	Dry weight (g/L)	Tanshinones [w] (mg/g dw)				Yield (mg/L)
		Crypto	Tan I	Tan IIA	SUM	
Control (4)	3.00 ± 0.104 c [y]	0.17 ± 0.001 d	0.12 ± 0.001 c	nd [x]	0.29 ± 0.002 d	0.87 ± 0.031 e
Control (8)	5.17 ± 0.667 b	0.22 ± 0.002 c	0.17 ± 0.001 c	0.16 ± 0.001 c	0.55 ± 0.003 c	2.84 ± 0.359 d
Control (10)	8.02 ± 0.145 a	0.11 ± 0.001 d	0.23 ± 0.002 b	0.24 ± 0.002 b	0.58 ± 0.002 c	4.65 ± 0.045 c
YE 400 mg/L (10)	7.77 ± 0.460 a	0.42 ± 0.001 b	0.26 ± 0.002 b	0.20 ± 0.005 b	0.88 ± 0.004 b	6.84 ± 0.421 b
JA 1.875 mg/L (10)	7.72 ± 0.426 a	0.42 ± 0.001 b	0.35 ± 0.013 a	0.25 ± 0.004 b	1.02 ± 0.016 b	7.87 ± 0.376 b
SA 400 mg/L (10)	7.87 ± 0.242 a	0.20 ± 0.003 c	0.17 ± 0.004 c	0.14 ± 0.002 c	0.51 ± 0.003 c	4.01 ± 0.124 d
ABA 2 mg/L (10)	8.60 ± 0.362 a	1.19 ± 0.002 a	0.39 ± 0.005 a	0.42 ± 0.001 a	2.00 ± 0.001 a	17.20 ± 0.730 a

[z] Hairy root of *Salvia miltiorrhiza* was cultured on liquid B5 medium for 8 weeks at 80 rpm, and then treated with 1250 mg/L yeast elicitor (YE), 1.875 mg/L jasmonic acid (JA), 400 mg/L salicylic acid (SA), and 2 mg/L abscisic acid (ABA) for an additional 2 weeks of culture.

[y] Values are mean ± SE of three samples. Means with different letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$) by least significance difference test.

[x] nd = non-detected.

[w] Tanshinones include cryptotanshinone (Crypto), tanshinone I (TanI), and tanshinone IIA (Tan IIA). SUM is the total content of Crypto, TanI, and Tan IIA.

處理後 1 及 2 週時之產量分別約為 7.8–10.4 mg/g 及 12.3–14.3 mg/g 之間，處理間差異並不顯著；但在處理後第 3 週時，1 mg/L ABA 處理組之丹參酮總產量可達 22.9 mg/L，顯著高於 2 及 4 mg/L ABA 處理與對照組，但在第 4 週時則降為 21.6 mg/L，但仍顯著高於對照組。此外，2 及 4 mg/L ABA 處理後第 3 週時已達 16.7 mg/L 與 17.4 mg/L，亦顯著高於對照組，但在第 4 週時與對照組相較已無顯著差異。

表 3 結果為 ABA 處理後第 3 週之各別丹參酮含量，顯示 ABA 處理對 3 種丹參酮累積均有促進效果，但 ABA 三種濃度處理間並無顯著差異，其中以隱丹參酮的累積效果最佳，1 mg/L ABA 處理之隱丹參酮含量達 3.93 mg/g；丹參酮 IIA 累積也以 1 mg/L ABA 處理最高可達 0.41 mg/g；丹參酮 I 含量與對照組相較差異並不顯著。

討　　論

植物於自然環境遭受微生物侵襲或各種不利生長的環境因子的影響時，會啟動本身之防禦機制，常以產生某些二次代謝物以抵抗逆境，此類物質稱為植物防禦素 (phytoalexin)；而這些誘導植物防禦素形成的物質即可稱之為誘引劑或誘導子 (elicitor) (Bourgaud *et al*. 2001; Radman *et al*. 2003)。在細胞或器官培養過程中添加誘引劑，具有誘使培養物產生特定產物之功效，因此在離體培養上常被用來提高二次代謝物之方法 (Wasternack *et al*. 1998; Radman *et al*. 2003; Zhao *et al*. 2005)。

Guo *et al*. (2005) 於丹參 (*S. miltiorrhiza*) 不定根培養結果指出，Fe^{2+}與 Mn^{2+}濃度太高與不足均抑制不定根生長，Cu^{2+}與 Mg^{2+}於高濃度下可促進其生長，而在低濃度 Zn^{2+}、Cu^{2+}、Mg^{2+}與高濃度 Fe^{2+}、Mn^{2+}的條件下均具有促進 Tan IIA 累積的效果。本研究結果顯示，Cu^{2+}處理有利於毛狀根乾重增加，但不利於丹參酮的累積，而 Co^{2+}處理之效果主要在促進丹參酮的累積。適當濃度之 Fe^{2+}與 Mn^{2+}處理不但可促進毛狀根乾重的提高，亦可提高丹參酮的含量，其中以 100 μM Fe^{2+}處理效果最佳，此結果

與 Guo *et al.* (2005) 丹參不定根培養所得結果相似。此外，本研究之培養液萃取後經 HPLC 分析，其紅色深淺與丹參酮含量有關，顯示丹參酮可由毛狀根釋放至培養基中 (資料未列)。

Chen *et al.* (2001) 於丹參毛狀根培養過程添加不同濃度的 YE 溶液，結果顯示毛狀根乾重從 3.9 g/L 增至 7.3 g/L；而隱丹參酮含量也從 0.001%增至 0.096%。Ge & Wu (2005a) 於丹參毛

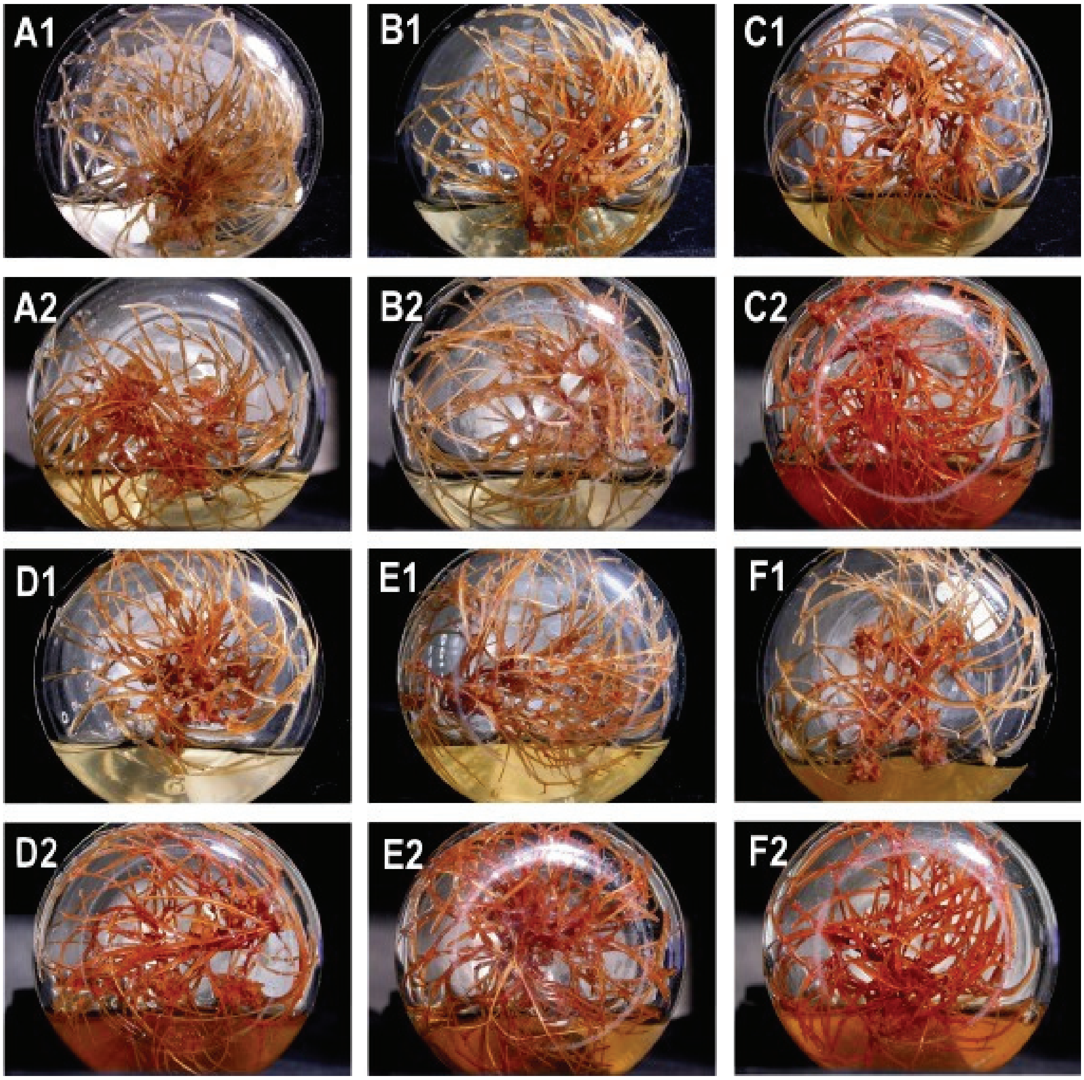


圖 2. 酵母誘引劑、茉莉酸、水楊酸與 ABA 對丹參毛狀根生長與丹參酮累積之影響。

Fig. 2. Influence of yeast elicitor (YE), jasmonic acid (JA), salicylic acid (SA) and abscisic acid (ABA) on growth and tanshinones production of *Salvia miltiorrhiza* hairy root culture. Hairy root was cultured on a liquid B5 medium for 8 weeks at 80 rpm shaking speed condition, root growth before (A1, B1, C1, D1, E1, and F1) and after treated with H_2O (A2), 2% ethyl alcohol (B2), 1250 mg/L YE (C2), 1.875 mg/L JA (D2), 400 mg/L SA (E2), and 2 mg/L ABA (F2) for an additional 2 weeks of culture.

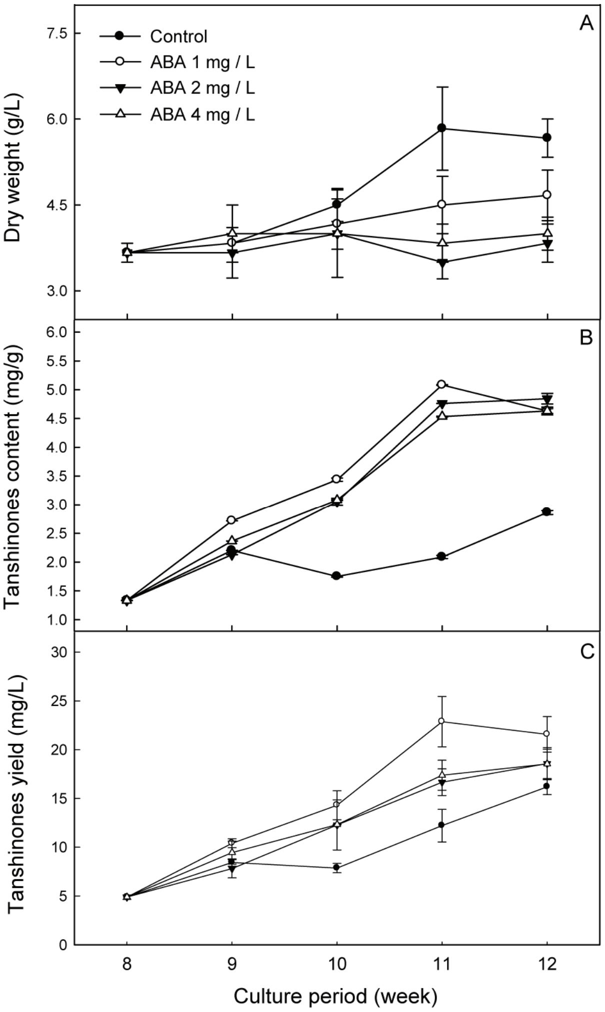


圖 3. 添加離層酸對丹參毛狀根乾重與丹參酮在培養期間之表現。

Fig. 3. Time-course study of additional abscisic acid (ABA) on dry weight (A), tanshinones content (B) and tanshinones yield (C) of *Salvia miltiorrhiza* hairy root culture. Hairy root was cultured on a liquid B5 medium for 8 weeks at 80 rpm shaking speed condition, and then treated with 2% ethyl alcohol (control), 1, 2 and 4 mg/L ABA for an additional 1, 2, 3, and 4 weeks of culture.

狀根試驗結果指出，β-氨基丁酸 (β-aminobutyric acid, BABA) 與 BABA + YE 處理均可促進丹參酮累積，且 BABA 具有提高 YE 促進丹參酮累積的效果，雖然 MJ 也具有誘發 YE 促進丹參酮累積的效果，但 MJ 效果較差，然 BABA 會抑制丹參毛狀根生長，而 MJ 則對其生長並無影響。Yan *et al*. (2006a) 指出生物性與非生物性誘引劑均能提升丹參毛狀根丹參酮的產量，但其中 Co^{2+}處理會抑制毛狀根生長的結果，且生物性誘引劑所誘導之丹參酮主要以 Crypto 為主，而非生物性誘引劑則以促進 Tan I 產生為主。Yan *et al*. (2006b) 於丹參毛狀根的培養過程中添加 100 mg/L YE，其丹參酮 (Crypto + Tan I + Tan IIA) 含量從 0.46 mg/g 增

表 3. 離層酸處理對丹參毛狀根之不同種類丹參酮含量的影響

Table 3. Influence of abscisic acid (ABA) on content of various tanshinones in *Salvia miltiorrhiza* hairy root culture

Treatment (culturing weeks) [z]	Tanshinones [x] (mg/g dw)		
	Crypto	Tan I	Tan IIA
Control (4)	0.15 ± 0.000 c	0.50 ± 0.000 b	0.20 ± 0.001 b
Control (8)	0.84 ± 0.002 b	0.34 ± 0.000 c	0.15 ± 0.000 b
Control (11)	1.22 ± 0.017 b	0.69 ± 0.011 ab	0.18 ± 0.000 b
ABA 1 mg/L (11)	3.93 ± 0.006 a	0.75 ± 0.000 a	0.41 ± 0.002 a
ABA 2 mg/L (11)	3.56 ± 0.000 a	0.81 ± 0.000 a	0.39 ± 0.002 a
ABA 4 mg/L (11)	3.44 ± 0.007 a	0.73 ± 0.001 a	0.36 ± 0.001 a

[z] Hairy root of *Salvia miltiorrhiza* was cultured on liquid B5 medium for 8 weeks at 80 rpm, and then treated with 1, 2, and 4 mg/L abscisic acid (ABA) for an additional 3 weeks of culture.
[y] Values are mean ± SE of three samples. Means with different letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$) by least significance difference test.
[x] Tanshinones include cryptotanshinone (Crypto), tanshinone I (Tan I), and tanshinone IIA (Tan IIA).

為 1.37 mg/g；生物性誘引劑 [YE、寡半乳糖醛酸 (oligogalacturonids) 及真菌 (fungal elicitor)] 與非生物性誘引劑 [Ag^{+}、Co^{2+}及 α-氨基異丁酸 (α-amino isobutyric acid)] 的比較試驗結果顯示，生物性誘引劑對丹參酮類成分的誘導能力較非生物性誘引劑為佳。本研究預備試驗結果顯示，在丹參毛狀根培養中添加酵母誘引劑 (YE)、茉莉酸 (JA)、水楊酸 (SA) 及離層酸 (ABA) 等誘引劑處理結果顯示，不僅對毛狀根無生長抑制的現象，且對丹參酮累積具有促進效果，而各處理組均有其表現最佳的處理濃度 (資料未列)，因此後續誘引劑處理即採用其最佳處理濃度進行試驗。表 2 結果顯示添加適當濃度之 YE、JA、SA 及 ABA 對丹參毛狀根生長並無不良影響，但就丹參酮含量而言，以 ABA 對丹參酮累積效果最佳，添加 ABA 處理 2 週後丹參酮 (Crypto + Tan I + Tan IIA) 含量約為對照組的 3.4 倍，且 ABA 處理對 3 種主要丹參酮皆有促進效果。本研究進一步測試不同 ABA 濃度處理不同時間之試驗結果則顯示 1 mg/L ABA 對丹參酮的誘導累積效果最佳，處理後第 3 週之丹參酮含量為對照組的 2.4 倍，而總產量為對照組的 1.9 倍，但 ABA 處理則會抑制毛狀根生長，在第 3 週時的差異已達顯著水準 (圖 3)。

Shi *et al*. (2007) 於丹參毛狀根培養結果指出，在含有蔗糖的培養基中添加 YE 或山梨糖醇 (sorbitol) 可促進丹參酮累積，但若是無蔗糖的條件下則毛狀根無法生長，且無促進丹參酮累積，顯示 Sorbitol 僅具有調節培養基滲透壓 (osmotic pressure) 作用的角色，並無法被毛狀根培養所吸收利用。Li *et al*. (2003) 於丹參 *Ti* 轉殖細胞懸浮培養中進行 YE、SA 及 YE + SA 的添加處理，結果顯示單獨 SA 處理雖然無法增加丹參酮含量，但 YE + SA 處理則可促進 Crypto 大量累積，同時也會抑制細胞生長，此時細胞內 ABA 含量比對照組增加 9.8 倍，此結果似乎顯示 ABA 與細胞生長及二次代謝物累積有關。本研究結果顯示，ABA 處理對 3 種丹參酮累積均有促進效果，其中對隱丹參酮的累積效果最佳，約為對照組的 3.2 倍，丹參酮 IIA 累積效果次之，約為對照組的 2.3 倍，而丹參酮 I 累積雖然較對照組高，但是未達顯著水準 (表 3)。

Wang *et al*. (2007) 於丹參毛狀根培養結果指出，添加 MJ 可促進丹參酮累積，並證實是藉由 DXP 路徑 (deoxyxylulose phosphate,

non-mevolanate, non-MVA pathway) 所促進。然而，Ge & Wu (2005b) 於丹參 (*S. miltiorrhiza*) 毛狀根培養結果指出，添加 YE 與 Ag^{+}均可促進丹參酮累積，但兩者所導致的丹參酮累積係分別來自 DXP 途徑與異戊二烯代謝途徑 (mevalonate, MVA pathway)。本研究結果顯示，JA、YE 及各種金屬離子皆有利於丹參酮累積，應與上述研究指出之代謝途徑有關聯，但本研究中所使用之 ABA 對於丹參酮的累積效果是否亦經由上述兩種途徑之一或另有其他途徑，則有待進一步證實。

綜合本研究結果得知，適當的 Fe^{2+}、Mn^{2+}、Co^{2+}離子不但有助毛狀根乾重的累積，且可提高毛狀根之丹參酮含量，添加 Cu^{2+}僅對毛狀根生長有幫助，但不利於丹參酮之生產。誘引劑除 SA 不利丹參酮之累積外，JA 與 ABA 皆具有促進其丹參酮累積的效果，其中 ABA 濃度配合處理時間對丹參酮的累積將更有效率，而且培養過程有部份丹參酮會釋放至培養液中，可直接抽離回收而純化。因此，本研究後續將利用適當誘引劑的添加，配合反應器培養之饋料與吸附等問題，進行放大培養與提高產率之相關研究，期能建構生產丹參二次代謝產物最具優勢的生產策略。

誌 謝

本試驗研究承農委會農業生物技術國家型計畫經費補助 (NSC 95-2317-B-055-003、NSC 96-2317-B-055-007)，特此申謝。

引用文獻 (Literature cited)

Bourgaud, F., A. Gravot, S. Milesi, and E. Gontier. 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. Plant Sci. 161:839–851.

Chen, H., F. Chen, C. K. Francis, C. K. Chiu, and M. Y. Lo. 2001. The effect of yeast elicitor on the growth and secondary metabolism of hairy root cultures of *Salvia miltiorrhiza*. Enzyme Microb. Tech. 28: 100–105.

Chen, U. C., H. S. Chan, C. Y. Lee, J. Y. Tsao, J. C. Liu, Y. C. Lee, and C. N. Hsia. 2008. Production of tanshinones of *Salvia miltiorrhiza* in hairy root culture. J. Taiwan Agric. Res. 57:305–316. (in Chinese with English abstract)

Gamborg, O. L., T. Miller, and K. ojima. 1968. Nutrient requirements of suspension sultures of soybean root cell. Exp. Cell Rep. 50:151–158.

Ge, X. and J. Wu. 2005a. Induction and potentiation of diterpenoid tanshinone accumulation in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots by β-aminobutyric acid. Appl. Microbiol. Biotechnol. 68:183–188.

Ge, X. and J. Wu. 2005b. Tanshinone production and isoprenoid pathways in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots induced by Ag^{+} and yeast elicitor. Plant Sci. 168:487–491.

Georgiev, M. I., A. I. Pavlov, and T. Bley. 2007. Hairy root type plant *in vitro* systems as sources of bioactive substances. Appl. Microbiol. Biotechnol. 74:1175–1185.

Guo, X. H., W. Y. Gao, H. X. Chen, and L. Q. Huang. 2005. Effects of mineral cations on the accumulation of tanshinone IIA and protocatechuic aldehyde in the adventitious root culture of *Salvia miltiorrhiza*. China J. Chin. Mater. Med. 30:885–888. (in Chinese with English abstract)

Hamill, J. D. and A. J. Lidgett. 1997. Hairy root cultures: Opportunities and key protocols for studies in metabolic engineering. p.1–29. *in*: Hairy Roots: Culture and Applications. (Doran, P. M., ed.) Harwood Academic. Australia.

Hahn, M. G. and P. Albersheim. 1978. Host-pathogen interactions. XIV. Isolation and partial characterization of elicitor from yeast extract. Plant Physiol. 62:107–11.

Hu, P., Q. L. Liang, G. A. Luo, Z. Z. Zhao, and Z. H. Jiang. 2005. Multi-component HPLC fingerprinting of Radix *Salviae miltiorrhizae* and its LC-MS-MS identification. Chem. Pharm. Bull. 53:677–683.

Hu, Z. B. and A. W. Alfermann. 1993. Diterpenoid production in hairy root cultures of *Salvia miltiorrhiza*. Phytochemistry 32:699–703.

Hu, Z. B. and M. Du. 2006. Hairy root and its application in plant genetic engineering. J. Integ. Plant Biol. 48:121–127.

Hu, Z. B., D. Liu, and A. W. Alfermann. 1999. Genetic transformation of *Salvia miltiorrhiza*. p.249–260.

in: Biotechnology in Agriculture and Forestry, vol. 45 (Bajaj, Y. P. S., ed.) Transgenetic Medical Plants, Springer-Verlag. New York.

Kang, S. M., H. Y. Jung, Y. M. Kang, D. J. Yun, J. D. Bahk, J. K. Yang, and M. S. Choi. 2004. Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on the production of tropane alkaloids and the expression of PMT and H6H in adventitious root cultures of *Scopolia parviflora*. Plant Sci. 166:745–751.

Kim, Y. J., B. E. Wyslouzil, and P. J. Weathers. 2002. Secondary metabolism of hairy root cultures in bioreactors. *In Vitro* Cell Dev. Biol. Plant 38:1–10.

Li, G. J., S. C. Wang, K. Xia, and X. Zhou. 2003. Effect of yeast elicitor and salicylic acid on the fluctuation of phytohormone contents in *Ti*-transformend *Salvia miltiorrhiza* cell cultures. Plant Growth Regul. 39:27–32.

Li, H. B., J. P. Lai, Y. Jiang, and F. Chen. 2002. Preparative isolation and purification of salvianolic acid B from the Chinese medicinal plant *Salvia miltiorrhiza* by high-speed counter-current chromatography. J. Chromatogr. A 943:235–239.

Lin, J. F. 2005. Development of Hairy Root Transformation System and Its Secondary Metabolites Production of *Salvia miltiorrhiza*. Master Thesis. National Chung Hsing University. Taichung, Taiwan. 76 pp. (in Chinese with English abstract)

Lin, Y. L., C. Y. Liu, T. H. Chen, M. Y. Kang, and M. J. Don. 2003. Acetyl danshenxinkun a from *Salvia miltiorrhiza*. J. Chin. Med. 14:123–128.

Park, S., J. S. Song, D. K. Lee, and C. H. Yang. 1999. Suppression of AP-1 activity by tanshinone and cancer cell growth inhibition. Bull. Korean Chem. Soc. 20:925–928.

Pitta-Alvarez, S. I., T. C. Spollansky, and A. M. Giulietti. 2000. The influence of different biotic and abiotic elicitors on the production and profile of tropane alkaloids in hairy root cultures of *Brugmansia candida*. Enzyme Microb. Technol. 26:252–258.

Radman, R., T. Saez, C. Bucke, and T. Keshavarz. 2003. Elicitation of plants and microbial cell system. Biotechnol. Appl. Biochem. 37:91–102.

SAS Institute Inc. 2001. SAS/STAT User's Guide. Version 8.2, vol 2. SAS Inst. Cary, NC, USA. 943 pp.

Shi, M., K. W. Kwok, and J. Y. Wu. 2007. Enhancement of tanshinone production in *Salvia miltiorrhiza* Bunge (red or Chinese sage) hairy-root culture by hyperosmotic stress and yeast elicitor. Biotechnol. Appl. Biochem. 46:191–196.

Tang, W. and G. Eisenbrand. 1992. *Salvia* spp. p.891–902. *in*: Chinese Drugs of Plant Origin, Chemistry, Pharmacology, and Use in Traditional and Modern Medicine (Tang, W. and G. Eisenbrand, eds.) Springer-Verlag. New York.

Wang, X. Y., G. H. Cui, L. Q. Huang, and D. Y. Qiu. 2007. Effects of methyl jasmonate on accumulation and release of tanshinones in suspension cultures of *Salvia miltiorrhiza* hairy root. China J. Chin. Mater. Med. 32:300–302. (in Chinese with English abstract)

Wasternack, C., O. Miersch, R. Kramell, B. Hause, J. Ward, M. Beale, W. Boland, B. Parthier, and I. Feussner. 1998. Jasmonic acid: biosynthesis, signal transduction, gene expression. Fett/Lipid 100:139–146.

Yan, Q., Z. D. Hu, and J. Y. Wu. 2006a. Influence of biotic and abiotic elicitors on production of tanshinones in *Salvia miltiorrhiza* hairy root culture. Chin. Tradit Herb Drugs 37:262–265. (in Chinese with English abstract)

Yan, Q., Z. D. Hu, R. X. Tan, and J. Y. Wu. 2005. Efficient production and recovery of diterpenoid tanshinones in *Salvia miltiorrhiza* hairy root cultures with *in situ* adsorption, elicitation and semi-continuous operation. J. Biotechnol. 119:416– 424.

Yan, Q., M. Shi, J. Ng, and J. Wu. 2006b. Elicitor-induced rosmarinic acid accumulation and secondary metabolism enzyme activities in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots. Plant Sci. 170:853–858.

Zhang, G. Q., B. C. Wang, C. R. Duan, and K. Hu. 2005. Methods and techniques to enhance the production of secondary metabolites in hairy roots. J. Chongqing Univ. 28:121–124. (in Chinese with English abstract)

Zhao, J., L. C. Davis, and R. Verpoorte. 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. Biotechnol. Adv. 23:283–333.

Zhong, J. J. 2001. Biochemical engineering of the production of plantspecific secondary metabolites by cell suspension cultures. Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 72:1–26.

Influence of Metal Ion and Elicitor on Hairy Root Growth and Production of Tanshinones of *Salvia miltiorrhiza* [1]

Uei-Chern Chen[2], Choi-Yi Lee[2], Hsiao-Sung Chan[3], Chin-Yi Tsao[2], and Chi-Ni Hsia[2,4]

Abstract

Chen, U. C., C. Y. Lee, H. S. Chan, J. Y. Tsao, and C. N. Hsia. 2010. Influence of metal ion and elicitor on hairy root growth and production of tanshinones of *Salvia miltiorrhiza*. J. Taiwan Agric. Res. 59:49–60.

The objective of this study was to examine the effect of metal ions and elicitors on root growth and tanshinones production of *Salvia miltiorrhiza* hairy root culture. Metal ions of Cu^{2+}, Fe^{2+}, Mn^{2+}, and Co^{2+} with various concentrations were tested. Results showed except Co^{2+} treatment that Fe^{2+}, Mn^{2+}, and Cu^{2+} were all able to increase the dry weight of hairy roots, significantly comparing the control treatment. Moreover, applications of suitable concentration of Fe^{2+}, Mn^{2+} and Co^{2+} into the medium could promote tanshinones accumulation. Among them, the 100 μM Fe^{2+} treatment the highest yield of tanshinones had a 1.8-fold increase than that of the control. Elicitors of yeast elicitor, jasmonic acid, abscisic acid and salicylic acid were found no effect on root growth however only the first three could enhance tanshinones production. Among elicitor treatments, best result with a 3.4-fold increase on tanshinones production was found by using 2 mg/L ABA than the control. Consecutive experiment using 1, 2, and 4 mg/L ABA in combination with expose duration was conducted. All ABA treatments resulted in higher tanshinones production than that of the control. The highest tanshinones production 22.9 mg/L was found using 1 mg/L ABA for 3-weeks exposure duration and cryptotanshinone and tanshinone IIA were counted for the major increasing part of the yield.

Key words: Danshen, *Salvia miltiorrhiza*, Metal ion, Elicitator, Abscisic acid (ABA), Yeast elicitor (YE), Secondary metabolites, Tanshinones, Hairy root culture.

---

1. Contribution No.2398 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: March 17, 2010.
2. Respectively, Assistant Researcher, Assistant, Assistant Researcher, and Associate Researcher, Biotechnology Division, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Assistant Professor, Graduate Institute of Biotechnology, Chaoyang University of Technology, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
4. Corresponding author, e-mail: hsia@tari.gov.tw; Fax: (04)23302806.

台灣農業研究 (J. Taiwan Agric. Res.) 59(1):61–69 (2010)

台灣稻作資訊系統之研發及應用 [1]

呂椿棠[2] 呂秀英[3,4]

摘　要

呂椿棠、呂秀英。2010。台灣稻作資訊系統之研發及應用。台灣農業研究 59:61–69。

本所開發的台灣稻作資訊系統，係針對稻作研究人員、基層技術推廣人員和農民不同層次之需求所建置，從 2001 年迄今共涵蓋「稻作育種管理」、「稻作育成品種」、「稻作新品種示範栽培」、「良質米推薦品種」及「優米網」五大子系統，透過網址http://tris.tari.gov.tw:8080/，提供品種、栽培技術、病蟲害診斷防治、產銷等線上資訊。本系統的研發過程及長期累積經驗，當可具體提供其他作物資訊系統建構上的參考。

關鍵詞：水稻、育種程序、良質米、生產栽培履歷、作物資訊系統、知識庫、網頁平台。

稻米 (*Oryza sativa* L.) 是台灣最重要的糧食作物。台灣稻作栽培始於古早時期，由原住民引進陸稻種植，水稻則於明末由漢人及荷蘭人所引入。鄭成功治台後獎勵屯田墾地植稻，生產糧食自給，迨日人據台後，更積極獎勵稻米增產，稻作面積及產量迅速增加。日據時期日本人開始將優良粳稻品種引入台灣，進行有系統的雜交育種與推廣工作，希望利用台灣來生產稻米以補充日本國內之需求，此舉將台灣原種植的秈稻逐漸改為粳稻，因而改變人民食用粳米的習慣。台灣光復後，政府為充分供應軍糈民食，必須恢復稻米生產以安定民生，因此，曾投入大量人力、財力、物力，從事稻米增產，至 1962 年稻作面積達 79 萬 4 千多公頃 (TPG-DAF 1999)，而各農業試驗改良場所也一直戮力於水稻品種改良工作，不斷推出新品種提供農民種植，奠定了後來台灣稻作產業風光的一面。1980 年後工業開始起飛，國民所得提高與飲食轉為多樣化，以致米食消費量逐漸減少，造成稻米供過於求現象，滾存餘糧累增，處理不易，乃於 1984 年起試辦稻田轉作，至 1997 年稻田轉作成效使面積降至約 36 萬公頃 (TPG-DAF 1999)。稻米產業在我國於 2002 年加入世界貿易組織 (WTO) 後，面臨外國進口低成本稻米之競爭，雖然國產稻米有因國家糧食安全之考量而採限量進口及救濟項目等措施，但長遠之計仍需提升國內稻作研發能量及調整產銷策略，以為永續經營之道。1990 年以後，隨著電腦技術不斷進步，將作物品種、栽培及各項生產技術等相關知識予以資訊化，變

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2391 號。接受日期：99 年 1 月 6 日。
2. 本所作物組助理研究員。台灣 台中縣 霧峰鄉。
3. 本所研究員兼主任秘書。台灣 台中縣 霧峰鄉。
4. 通訊作者，電子郵件：iying@tari.gov.tw；傳真機：(04)23325176。

成為保護長期累積知識與促進農業科學決策的重要手段之一，對提供我國農業研究之知識傳播可發揮最大的作用。

因此，1993 年農業試驗所農藝系試驗統計研究室 (現在作物組生物統計與生物資訊研究室的前身) 與稻作研究室，鑒於個人電腦已漸普及，各農業試驗改良場所稻作研究人員的育種試驗資料累積數量非常龐大，查閱和整理都必須倚賴人工，但人力資源漸缺乏，乃構思將原建置於農業試驗所 UNIX 主機的稻作種原資料轉移至個人電腦上，並籌劃開發「稻作育種管理系統」，希望能夠充分利用資訊工具來協助國內稻作育種試驗工作之進行。當時個人電腦的作業環境還是 DOS 系統，但利用一些視窗化工具軟體完成了「稻作親本資料庫」，方便育種人員於自有個人電腦上進行親本資料查詢與篩選親本作業，這是「稻作育種管理系統」的雛型。2001 年微軟視窗作業系統 (Windows) 及網際網路開始普及，試驗統計研究室對 Windows 作業系統之伺服器與資料庫管理也已累積相當經驗，故再次與稻作研究室合作，在原有稻作親本資料庫之基礎上提升功能成為「稻作育種管理系統」，使各試驗改良場所稻作育種人員都能夠透過網際網路，將育種過程中的各項試驗資料進行整理、管理、交流及整合，以利育種工作；同時，也建置完成「稻作育成品種系統」，提供一個快速簡便的管道讓稻農、推廣人員和消費者藉由上網，即可輕鬆地取得國內稻作新品種各項資訊。農委會農糧署成立後，對於稻作產業的推展不遺餘力，希望本所能將原有系統根據現有稻作產業需求面擴增服務層面，以建置具全方位之稻作產業知識庫，因此本所於 2005 年透過農糧署經費支援並結合競爭型計畫經費，再擴增「稻作新品種示範栽培」、「良質米推薦品種」及「優米網」三個子系統。至此，台灣稻作資訊系統 (Taiwan Rice Information System，簡稱 TRIS, http://tris.tari.gov.tw:8080/) 水到渠成。繼之，於 2007 年再承蒙農委會資訊中心補助經費，得以將水稻相關病蟲害資料予以資訊化，建置完成「水稻病蟲害資訊系統」並納入台灣稻作資訊系統。因此，目前台灣稻作資訊系統共涵蓋了六項子系統，主網頁如圖 1 所示。藉由本系統之知識蒐集與整合，舉凡育種研究、示範推廣、農民栽植到消費者認知等環節之稻作資訊都能輕易被管理與傳達，並根據不同對象之需求快速提供相關知識，讓稻作研究人員與經營者能有更好的利器與國際競爭，創造永續的稻作產業。

本系統目前安裝在 HP ProLiant-DL380 伺服器內，作業系統採用微軟公司中文版 Windows Server 2003。資料庫系統為 Sybase 12.5，其具有開放與可擴展的結構體系。網頁伺服器使用 Apache Tomcat，此為一官方認可的技術平台，符合標準的部署與擴充程序，可以連接到諸如關聯式資料庫和套裝軟體等各種不同的資料來源，被廣泛應用在中小規模的 Java Web 中，而且是免費，所以在預算成本考量下可建置合法且完整的網頁系統環境，有利於日後伺服器的升級建置。另外利用 Java Server Pages (JSP) 進行動態網頁的開發，便於終端使用者只要透過瀏覽器即可自網路上查詢到所要的資料，不需再另行安裝程式。

台灣稻作資訊系統共包含六項子系統，茲分項說明如下：

一、稻作育種管理子系統

台灣稻作育種改良工作已歷時百年，育種方法的改變、設備的改良推新、育種觀念與目標的改變等，都影響新品種推出的速度與爾後栽培表現，這當中育種者的經驗、育種過程試驗資料的累積及分析則扮演重要的角色。育種工作是耗時又艱辛的研究，而新品種的產生除代表育種者的成就外，也提供稻作栽培者新的選擇以及消費者新的米食享受。國內作物育種

圖 1. 台灣稻作資訊系統首頁。
Fig. 1. Homepage of Taiwan Rice Information System.

領域中，當屬稻作育種團隊的人數最多、分工最細、合作最緊密且成果斐然。育種工作是知識的累積，育種過程中涉及育種策略擬定、親本選擇、各代後裔選拔、各項試驗性狀調查等各項資料，數量龐大且繁瑣，育種人員必須藉由資訊設備進行儲存、整理與分析，才能有效完成任務。過去這些試驗資料都是分散在各試驗改良場所育種人員的自有個人電腦內分別保管，整合不易且難以即時交流共享。在網路傳輸普及化的今天，透過網際網路可加速資訊之搜尋、比對及存取。因此，本系統乃匯集國內各試驗改良場所稻作育種人員的需求，將育種過程所獲各項資料加以系統化、標準化與資料庫化，同時讓資料的建置與查詢具有可擴充性與容易維護，且藉由網際網路使資訊的取得不會受到時空限制，以使育種人員能在最快時間內擷取育種過程中各階段新品系的試驗資料，提供最正確且完整的訊息作為選拔依據。各試驗場所的稻作育種人員，只要在個人電腦內安裝本子系統程式，並設定連線，連到農業試驗所的 TRIS 伺服器，即可建立屬於個人自有的稻作育種管理資訊體系。系統的操作介面非常具有親和性，完全遵循稻作育種標準作業流程，系統架構區分為基本資料作業、雜交組合與早期世代資料作業、產量區域試驗作業、特性檢定作業、查詢作業、報表作業等六大主項目，並以樹枝狀之多層次展開方式進入作業子項目。輸入內容涵蓋稻作親本性狀資料、雜交至新品種命名過程中所有相關試驗的資料，由於資料建置由分散各地育種人員自行負責，但集中管理在農業試驗所伺服主機內，因此可達資料分散處理、集中管理、減少重複輸入與資源分享的理念，使稻作育種資料更加詳細、正確與完整；而且資料之使用與查詢權限皆受到

帳號與密碼之管控，非資料擁有者或是被授權者皆無法獲知，以保護育種過程資料之機密性。同時考量到調查資料多為特性資料，為方便操作，大部分欄位儘量以選單方式勾選，文字及數字欄位則自動檢核以減少錯誤。各項試驗資料建置，可以自行設定所需調查性狀的內容，並允許轉出至微軟的 Excel 軟體進行資料輸入，亦可將此 Excel 檔案轉至 PDA 設備進行調查資料建檔。報表作業之內容均可轉出成檔案格式，利用 Excel 進行資料整理，以產生各種報告所需的格式內容，設計雜交後代系統編號之條碼印製系統，防止人工書寫可能產生之錯誤；未來將繼續擴充條碼讀取設備與系統功能，讓資料讀取與輸入更加便利，以提昇育種工作效率。該子系統是國內最早、也是目前唯一整合各試驗改良場所稻作育種專家在育種過程中各項試驗資料的管理資訊系統。

二、稻作育成品種子系統

一個水稻品種的育成約需 8–10 年，經由嚴謹的育種過程中從數千個後代逐次淘汰與進行各項試驗，才能選拔出優良品種，並推薦給農民種植。自日據時期至 1987 年止國內共育成稉、秈稻共 243 個品種，然其中只有 138 個品種尚保存稻種可資利用，並於 1987 年被收錄彙編入台灣稻作品種圖誌 (COA *et al*. 1987)。參閱此圖誌，可清楚瞭解各稻米品種的內涵及其一生，以及各品種於各年期的稻作栽培情形，是一本值得參考及珍藏的重要圖誌。惟該圖誌所記載之品種僅限 1987 年以前資料，在各農業試驗改良場所育種專家積極進行品種改良努力下，新的水稻品種不斷被育成推出，累計至 2009 年 11 月止已有 189 個水稻新品種，使稻作栽培者可以有更多選擇及提高獲益，並提供國人食米之多樣性產品。每個品種育成且命名後，雖然都會印製推廣文宣品提供農民參考，或編製專書來保存資料，但印刷品之編撰與出版工程浩大，且囿於發行數量有限，農民在取得與使用上亦屬不便。因此，建置稻作育成品種子系統之目的，是希望將歷年來國內各農業試驗改良單位所育成之稻作品種資料予以資訊化，提供該品種完整資訊給相關稻作育種、基層推廣人員與農民參考利用。此不但能讓稻作栽培及推廣人員獲得到最即時且豐富的稻作品種特性和栽培資訊，稻米產銷業者及農民也能藉由各品種優劣與過去栽培面積訊息，選擇合適的品種栽植以謀求更好利潤，而消費者亦可由本資料庫所提供之專業知識瞭解育種者之艱辛，並知道如何選購好米與享用米食文化，進一步提高全民的稻米消費量。本子系統內所有育成品種的資料來源，基本上是以行政院農業委員會、前台灣省農林廳及前亞太糧食肥料技術中心編印的「台灣稻作品種圖誌」一書為架構，將此彙編資料建置於資料庫內，同時將 1987 年以後各農業試驗改良場所新育成品種納入系統中。系統架構區分為資料建置、系統控管、育成品種介紹與查詢四大功能，一般使用者可透過瀏覽器進入育成品種介紹與查詢，而無法進入另兩個功能，因此在資料保護上堪稱安全。資料建置主要由農業試驗所負責統籌輸入，操作介面考慮輸入人員操作方便，由系統控管人員先行建置各類表單，使大部分欄位儘量以選單方式進行勾選，文數字欄位則自動檢核以避免操作錯誤；待資料建置完畢後，另由各試驗改良場所該品種育成人員進行資料審核，以確保資料正確無誤；審核後之資料，便可對外開放提供查詢。育成品種介紹功能，則針對每一品種提供了品種概述、親緣關係、農藝特性、米質特性、抗病蟲特性、種植面積、育種場所及人員、栽培技術資訊等八大項目。查詢功能分為三種方式，可擇一執行：(一) 依育種過程的雜交、選出、命名年份與全文檢索方式查詢資料庫內各項資訊；(二) 依品種概述資料內各項特性資料查詢以找出符合條件的品種；(三) 提供各品種在各縣市的栽培面積查

詢，若是稻作業務相關人員則可進而依縣市別、類型胚乳特性與年期，快速查到各品種在各地栽培面積的統計資料。本系統自 2002 年 12 月上線迄今，已輸入 189 個國內育成與引入品種，各品種於各縣市栽培面積已累計 31 年 (1979–2009) 資料，堪稱是國內唯一、最完整且豐富的稻作品種資料庫。

三、新品種示範栽培子系統

為提昇稻米產業整體競爭力，各試驗改良場所稻作研究人員不斷推出滿足市場各類需求的品種，其不但要針對品種特性建立相關栽培資訊，提供給推廣人員與農民參考，也必須於新品種命名後在各地區農戶積極辦理兩年四期作小面積示範栽培試驗，讓新品種的特性能在不同栽培方式下有更大的展現空間。同時根據這些示範栽培所獲得資料，提供作為良質米推薦品種的評鑑標準，使栽培農戶可有更多的品種選擇性。因此，本子系統建置之目的在彙整國內各區農業改良場的新品種示範栽培資料，以提供一個快速管道讓外界參考，並利於農政單位考核示範栽培試驗之執行成效用。本子系統區分資料建置與資料查詢兩大功能：(一) 資料建置僅開放給各區農改場業務負責人，協助其建立與管理示範栽培資料，並產生執行該業務所需各項調查表格，內容涵蓋示範農戶建置、新品種特性調查、稻米品質、施肥與病蟲害調查與防治、示範觀摩、效益分析、品種適應性、調查表與執行成果報表等項，其中執行成果報告可另存網頁格式再以 Excel 進行編排，產生符合上級需求之計畫報告；操作介面為考量業務承辦人與示範農戶之工作負擔，及各地方對同一事物在名稱上不同稱呼之問題，舉凡病蟲害名稱、肥料種類、品種名稱與縣市鄉鎮地名等皆採用勾選方式作業，以減少中文輸入與相同資料重複輸入等作業，避免錯誤發生；(二) 資料查詢功能完全對外開放，提供以品種分類方式，展現該品種於示範栽培期間之全部資料，以能輕易比較出該品種於不同年期與地點之表現。透過本子系統所匯集的各項資料內容，使育種專家、推廣人員與農戶都能據此快速並正確地選定適合該地區種植的品種，以發展該區域的稻米特色。

四、良質米推薦品種子系統

國產稻米之栽培目標，以往大都以稻穀產量為優先考量，為提升國產稻米品質，增強其市場競爭力，農糧署積極推動國內水稻良質米推薦品種制度，希望能根據各良質米品種的特色，進行有商業競爭力之生產經營，使生產品不僅可與進口稻米相抗衡，進而運用貿易自由化，強化國內糧食調配國際化的能力，使台灣稻米產業得以永續經營。良質米推薦品種之品質標準為：(一) 米飯食味總評達 A；(二) 白米透明度優於 3 (含 3)；(三) 白米心白、腹白、背白總和不高於 1 (含 1)。至目前為止，國內被評鑑為良質米共有 14 個品種。本子系統乃結合稻作育成品種與新品種示範栽培 2 個子系統的資料庫，將現有良質米推薦品種作一整合性介紹，提供專業栽培農戶和糧商等瞭解現有良質米推薦品種的特色、最適栽培管理方式與栽培現況。該子系統內容涵蓋各良質米推薦品種的適栽地區、栽培技術資訊、品種特性介紹、示範栽培調查資料等項目。藉此，稻作栽培者能隨時掌握國內良質米品種的特性資料及栽培知識，而消費者也能充分瞭解國內好米的相關資訊。

五、優米網

政府大力推行安全優質的農產品，希望國人能吃得安全與安心，並進一步將農產品外銷至國外，替農民創造更多利益。稻作產業近幾年來在農政單位大力輔導下，不再以傳統農品型態出現，各產地皆改用能呈現本身商品特色的方式販售。國內之稻米產銷面向，除了少數大型糧商能以自有品牌在平面與電子媒體廣告

外，大部分皆採用傳統經銷商的銷售方式。我國自加入 WTO 後，面對進口稻米的衝擊，使稻米產業面臨嚴峻挑戰，農政單位為保障農民權益，一直努力運用輔導計畫、品種改良、栽培技術改進及舉辦各種促銷活動，提升國產稻米的品質與消費量，希望讓國產稻米能更具競爭力，提高稻農收益。因此，如果能夠協助稻米生產販售廠商，將其水稻生產履歷以更活潑生動的方式，透過便捷的網際網路，完整地展現於消費者眼前，勢必更能創造自有稻米產品的獨特性與競爭優勢。優米網是一個開放式的模組化網頁平台，於 2006 年通過農委會智審會審查，採非專屬技術授權方式，可授權於糧商、產銷班或農會等水稻產銷團體。本網頁平台包括後端資料庫與前端模組化網頁顯示畫面兩部分：(一) 後端資料庫提供被授權廠商，根據自有稻米專業區之運作管理模式，依據各期作水稻栽培管理控管流程，將水稻生產過程所逐一記錄與拍攝之各項作業內容的照片，藉由相片編輯軟體輔以簡單文字說明照片內容後，依序套用至模組化網頁平台；(二) 前端網頁之展現架構係以水稻生長過程為表達主軸，將水稻的生產過程區分為種子準備與秧苗期、插秧期、營養生長期、抽穗期、收穫期、調製期與產品等 7 個階段，組成水稻生產循環圖 (如圖 2)，此能清楚表達水稻不同階段的生長歷程，透過各生長階段所展現的相關照片，讓水稻的生長過程更容易瞭解，並彰顯該產區與產品之特色。本系統另提供離線瀏覽網頁的功能，當每期作收獲後能將該期作相關網頁內容全部下載，燒錄成稻米產銷履歷光碟，可隨產品附贈，以加深消費者對產品的印象和信賴度。本網頁平台已於 2007 年以非專屬技術授權於台南縣芳榮產米廠，該米廠在台南縣後壁鄉設置芳榮稻米產銷專業區，輔導契作農戶種植台農 71 號益全香米與台稉 2 號。該專業區除了定期將這兩個品種的產銷履歷過程資料登錄於農委會的農產品安全追溯資訊網外，也由班長與產銷

圖 2. 台灣稻作資訊系統展現的水稻生產循環圖。

Fig. 2. Taiwan Rice Information System displaying the cycle diagram of rice production.

班幹部利用數位相機隨時將所有契作農戶的水稻栽培管理各個施作過程拍攝下來，再藉由簡易的影像編輯工具加入簡單說明文字後，上傳至優米網平台。藉此，消費者購買了稻米產品，不但從「稻田」到「餐桌」的所有產銷資訊皆全程公開、透明與可追溯，同時對於稻農辛勞的情景也能一目瞭然且具親臨感，更提升稻米產品的曝光率及取得消費者的信賴感。歡迎國內更多稻米生產專業團體加入優米網平台，共同塑造及開拓各具地方特色的稻米產業。

六、水稻病蟲害資訊系統

水稻之病害已記載的種類有 67 種，害蟲有 140 餘種，這些病蟲害種類的發生常隨稻品種、耕作管理及氣候條件所左右 (Cheng *et al.* 2007)。在農作物病蟲害防治體系中，各種類型的病蟲害能否被正確診斷，直接影響到防治工作的成敗。因此，長久以來水稻病蟲害診斷工作皆倚重經驗豐富的水稻病蟲害研究專家與學者之鑑別，使病蟲害防治工作能順利完成。在網路傳輸普及化的今天，若能將這些既有的專業知識，建立一個可以協助執行病蟲害診斷與防治措施的資訊系統，透過網際網路進行此等資訊之搜尋、比對及存取，讓水稻專業區或農民可以透過網路自行執行水稻病蟲害診斷，完成病蟲害防治工作，對於紓解水稻病蟲害研究專家與學者的工作與時間壓力則有相當大的助益。因此，2007 年彙集本所水稻栽培、病蟲害與資訊等各領域專家，以「植物保護圖鑑系列 8-水稻保護（上、下冊)」之內容做為藍本 (Cheng *et al.* 2007)，再補充大量病蟲害圖片及各種防治策略，同時整合育成品種子系統的統一病圃檢定及新品種示範栽培子系統的病蟲害調查等資訊，進行資料分析和系統規劃，於同年底完成可提供線上診斷的水稻病蟲害資訊子系統。本系統以徵狀診斷模型為基礎，研發了可透過網際網路進行線上診斷與防治資訊查詢的水稻病蟲害資訊系統。系統內容涵蓋「病蟲害診斷」及「病蟲害資訊與防治」兩部份，主要集中在病蟲害知識和圖像庫的建立。提供使用者根據取得的被為害水稻植體，依水稻發育時期、病蟲害為害部位、徵狀和病蟲害特徵圖片等，進行病蟲害的診斷作業，確定病蟲害的種類後，再做出正確的防治和處理。也可以使用病蟲害種類名稱作為檢索依據，來查詢出病蟲害知識和防治資料。本系統可作為作物病蟲害診斷專家系統之開發平台，未來擴展到其他作物病蟲害之線上診斷服務及防治資訊查詢。

台灣稻作資訊系統自 2001 年稻作育種管理子系統上線至今已發展到六個子系統，內容涵蓋了品種、栽培技術、病蟲害防治、產銷等資訊，如何瞭解及建立一個符合各領域專家及國人需求的稻作專業知識系統，其研發過程及長期累積經驗，當可具體提供其他作物資訊系統建構上的參考，但仍有進步空間可資努力。相信農業先進所努力的稻作研發成果，藉由本系統將其廣為傳播，將可嘉惠更多農民，並讓從事稻作研究的新進人員得以快速獲取前人的寶貴知識，加速稻作研究的傳承與發展。農業試驗所在稻作資訊系統的既有根基下，未來將會再與各區農業改良場所共同合作，朝向其他作物領域推進，戮力發展出作物專家系統或栽培管理整合資訊系統，以具體實現農業知識管理的資訊化，落實發展優質、安全、高產、高效、永續的現代化農業體系。

誌　謝

本系統之所以能順利開發完成，承蒙國內各農業試驗改良場所水稻研究與病蟲害專家多年研究成果之奉獻，行政院農業委員會及農糧署之經費補助與支持，豐聯資訊股份有限公司協助系統程式設計，在此一併致上最高之謝忱。

引用文獻 (Literature cited)

Cheng, C. H., K. C. Lo, M. Y. Chiang, Y. T. Huang, Y. J. Chiang, C. H. Liu, C. G. Chern, S. B. Shih, P. H.

Hsu, S. C. Hung, C. U. Lin, and D. S. Liu. 2007. Picture Series of Plant Protection-8. Rice Protection (two books). Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, COA. 442 pp. (in Chinese)

TPG-DAF. 1999. History of the Development of Taiwan Rice. Nantou, Taiwan. 16 pp. (in Chinese)

COA, TPG-DAF, and FFTC. 1987. Rice Varieties in Taiwan (1930–1987). Taipei, Taiwan. 339 pp. (in Chinese)

Establishment and Application of Taiwan Rice Information System [1]

Chun-Tang Lu[2] and Hsiu-Ying Lu[3,4]

Abstract

Lu, C. Y. and H. Y. Lu. 2010. Establishment and application of Taiwan Rice Information System. J. Taiwan Agric. Res. 59:61–69.

Taiwan Rice Information System (TRIS), established by Taiwan Agricultural Research Institute, is able to meet the requirements of rice researchers, extensionists, and farmers. TRIS consists of five subsystems including 'Rice Breeding Management System', 'Released Rice Varieties Information System', 'New Rice Varieties Demonstration Information System', 'High-quality Rice Varieties Information System', and 'Superior-quality Rice Production Web'. It provides online information of variety, cultivation technology, diagnosis and control of rice diseases/insect pests, production and marketing through internet (http://tris.tari.gov.tw:8080/). The developing process and long-term experiences in TRIS could be provided as a reference for the development of information systems in other crops.

Key words: Rice (*Oryza sativa* L.), Breeding procedure, High quality rice, Traceability of culture and production, Crop Information System, Knowledge database, Web platform.

---

1. Contribution No.2391 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI), Council of Agriculture. Accepted: January 6, 2010.
2. Assistant Researcher, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
3. Senior Researcher and Secretary-general, TARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
4. Corresponding author, e-mail: iying@tari.gov.tw; Fax: (04)23325176.

「台灣農業研究」稿約

一、本刊為行政院農業委員會農業試驗所發行之學術性季刊，刊登農業試驗研究相關之研究稿件：

論　　說：由本所邀請專家撰寫。

研究報告：關於農業科學未曾發表之研究報告，按題目、作者、摘要、前言、材料與方法、結果、討論、結論 (一般略去)、誌謝 (可略去)、引用文獻等依序撰寫，圖與表附於其後，全文以不超過 10 印刷頁為原則。

研究簡報：關於農業科學未曾發表之簡短原始研究報告，不須分章節撰寫，但須附中英文摘要，全文以不超過 4 印刷頁為原則。

二、稿件應以中文或英文撰寫。來稿請送原稿及電子檔案各一份 (內各附照片原圖，繪製圖版可附原圖與影印圖片二份)。文稿以 A4 大小之白色紙張 (長 29.6 公分，寬 21 公分) 兩倍行高 (double space) 打字，12 號字體，左邊對齊，版面應上下預留 3 公分，左右 2 公分之空間，並自第二頁起在右下角以阿拉伯數字註明頁數。撰寫時，中文以細明體、英文以 Times New Roman 字體打字；英文字距一格，句距二格。審查接受之稿件，隨文請附紙本文稿一份與電子檔案，以利送審及電腦排版等作業。

三、稿件格式：

題　　目：宜簡短，能充分反應文旨，並附簡題 (Running title) (中文 12 字；英文 6 字以內為原則)。英文題目除介系詞、連接詞等字外，每字第一字母應大寫。題目附小註，說明研究報告編號。

作　　者：作者姓名置中，中文名字間空一格；英文姓名則名在前姓氏在後，作者二人或二人以上時，以 “，” 相隔，最後一人前加 “and” 字樣，其表示方法如 Chen-Seng Huang, Chen-Chang Chen, and Chyr-Guan Chen。每一作者須附小註，以說明所屬機關單位，通訊作者須附電子郵件信箱與傳真機號碼。題目與作者同置第一頁。

摘　　要：不分段落、宜簡潔明確。摘要之前應加作者、年代、題目、期刊、及卷期，摘要之後應附關鍵詞 (Key words)，關鍵詞不超過 5 個，每個英文關鍵詞第一字母應大寫。摘要以不超過 500 字為原則。以中 (英) 文發表者須附英 (中) 文摘要，置於本文之後，且內容須與中 (英) 文摘要相符，並附稿件編號、作者、通訊作者之小註。

本　　文：依序為前言 (INTRODUCTION)、材料與方法 (MATERIALS AND METHODS)、結果 (RESULTS)、討論 (DISCUSSION)、結論 (CONCLUSION)、誌謝 (ACKNOWLEDGEMENTS)、引用文獻 (LITERATURE CITED)。除學名、專有名詞、化學式、數學公式、數字、度量衡單位及縮寫外，文句中不得中外文並用，需使用英 (外) 文以助明瞭時，須將英 (外) 文括號置於中文之後。材料與方法、結果兩部份如有必要須分章節，每一章節內並可再分小章節，以助明瞭文稿內容。章節題目 (heading) 單行置於該章節之前，小章節題目 (subheading) 直接置於小章節之首。

表　　格：

1、每一表格應分別繕製，須以 WORD®中 “表格” 工具製作，上方須有標題，並按文中出現順序加上表 **1. (Table 1.)**，表 **2. (Table 2.)** 等冠號。

2、中文稿之表格標題應中英文並列，冠號與表幅齊頭，表內項目及內容以英文書寫。英文標題及各欄英文細目，除第一字之第一字母大寫外，餘均小寫。

3、表格應加分析、簡化與歸納後始可列表。每一表格應在文中標示清楚，以便對照。

4、表中內容如需說明，均須附加小註，以 z, y, x,…等縮小小寫字母置於右上角，並於表下依次敘述。表格僅列橫線。

5、性質類同之圖與表，務請精簡與合併。

圖　　片：

1、手繪圖版以黑色墨水分別繪圖紙或描繪紙 (白色透明紙) 上。如以電腦繪圖，請以鐳射印表機或同規格之印表機列印，力求清晰。

2、圖中所有標示應以英文書寫 (Arial 字型) 或註明於標題之後。

3、照片以光面紙為原則，清晰度以縮小 50%可判讀為宜。多幅照片儘量製成併版；如有特別指明，應加圈或箭頭表明。顯微照相，應加比例尺大小；照片大小以不超過版面 (25 cm × 18 cm) 為宜。

4、圖版及照片下方應有標題，並按文中出現的順序加上圖 **1. (Fig. 1.)**、圖 **2. (Fig. 2.)** 等冠號，在文中須標示清楚，以便對照。中文稿標題應中英文併列，力求明確。

5、除併圖外，每一圖片應單頁製作。

6、照片、圖片背面應註上冠號及作者姓名，以免排印錯誤。

誌　　謝：不分段落，包括人物、經費來源等。誌謝可略去。

引用文獻：

1、列舉確實曾引用之文獻。文獻以登載於學術性期刊、書籍、研討會之文章及學位論文為限。文中涉及引用文獻時，根據該文獻的作者與年代加以括號：如 (Sung 1991)、(Lo 1991, 1992)、(Chen & Ho 1983)、(Sung 1991; Hsu *et al.* 1992)，以年代先後為序置於引用文處。

2、文獻須以英文撰寫，以姓名字母為序。作者相同時以年代先後為序。

3、文獻之書寫方法以期刊為例，依序為作者、年代、題目、期刊、卷期、頁數。

4、期刊名須依該期刊公告之縮寫撰寫；如無者，請參照 Biosciences Information Service (1992) 出版之 "Serial Sources for the BIOSIS Previews Database"或依該學術領域之慣例撰寫。

5、文獻書寫範例如下：

(1) 原中文報告引用文獻出自學術性期刊

Hsu, S. H., T. Y. Chung, T. C. Kuo, and S. F. Wang. 1992. Studies on the micro-climate of greenhouse. I. Light environment of greenhouse. J. Agric. China 157:34–43. (in Chinese with English abstract)

(2) 原中文報告引用文獻出自著作性書籍

Sung, J. M. 1991. Nitrogen metabolism of rice. Chinese Agronomy Press. Taipei. 100 pp. (in Chinese)

(3) 原中文報告引用文獻出自編輯性書籍

Yang, C. M. and C. Y. Lin. 2003. Studies on rice precision farming system. p.1–12. *in*: Rice Precision Farming System. (Yang, C. M. and C. Y. Lin, eds.) Agric. Res. Inst. Pub. No. 105. Taichung. 252 pp. (in Chinese with English abstract)

(4) 原中文報告引用文獻出自研討會專刊

Chang C. A. 2001. Application and extension of virus-free seedling for the control of virus diseases of passionfruit in Taiwan. p.31–38. *in* the Proceeding of Symposium on Application of Healthy Plant for Control of Plant Diseases. Taiwan Phytopathol. Soc. Pub. Taichung. (in Chinese with English abstract)

四、單位、縮寫格式、括號及統計分析

1、凡文中出現之數值，除非另有特別之意義，一律用阿拉伯數字書寫。單位如以英文表示，則用國際公認標準符號 (SI units) 代替全文，各常用之縮寫單位參照說明如下：

(1)長度：公里 (km)、公尺 (m)、公分 (=厘米) (cm)、公釐 (=毫米) (mm)、微米 (μm)。

(2)重量 (W)：公斤 (kg)、公克 (g)、毫克 (mg)、μg。
(3)容積 (V)：公升 (L)、公撮 (=毫升) (mL)、μL。
(4)面積：公頃 (ha)、平方公尺 (m^2)、平方公分 (cm^2)。
(5)溫度：攝氏 (℃)、絕對溫度 (K，但須加以說明)。
(6)時間：日 (天) (d)、時 (h)、分 (min)、秒 (s)。
(7)濃度：莫耳 (M)、千分之一莫耳 (mM)、當量 (N)、千分之一當量 (mN)。
(8)重力加速度：*g*。

2、其他之縮寫：平均 (*av*)、大約 (*ca*)、直徑 (diam.)。

3、括號：括號字型全以半形 ( )，括號前後各空一格。

4、統計分析：達顯著性水準以*、**或處理間顯著差異區分，以 a、b、c、...表示者均應加註顯著機率值 *P* (例如 $P < 0.01$)；各統計量請採慣用符號，例如相關係數 (*r*) 、決定係數 (R^2)、變異係數 (cv)、標準差 (sd)、平均值標準差 (se) 等。

5、其他問題：
(1)單位與其前面數值之間應空一格，如 220 g。
(2)數學運算符號與其前後數值之間應各空一格，如 P = 0.014、23.6 ± 3.0、15 × 2。
(3)在±、×或 to 的前後兩數值若是含有單位，請用 23.6% ± 3.0%、15 cm × 2 cm、20℃ to 30℃ (即勿省略前面數值之單位)。
(4)數值起迄符號用– (全型破折號)，勿用~或-，且與前後兩數值之間無須留空格，如 3–6、2005–2007 年、7 月 20–25 日。
(5)年代一律用西元。

五、其他注意事項

1. 生物學名以斜體字表示，屬名第一字母大寫。學名於摘要、本文、每一圖表中第一次出現時，須寫全名，如 *Citrus sinensis*；第二次出現時，屬名保留第一字母後加句點 “.”，種名全寫，如 *C. sinensis*。生物學名於本文中首次出現時應加註命名者。
2. 中文稿件中，外文名詞應儘量翻譯成中文，若是不常見名詞應於文中第一次出現時以括號標出原文。摘要及本文中，英文縮寫於第一次出現時，須附全名。

六、投稿方式

1. 稿件內容務須依照上列規定格式書寫，本期刊編輯委員保有修改與退稿之權利。文稿經本期刊接受後，作者得送含文稿內容之磁片或電子檔案 (IBM 相容電腦之文書管理檔，如 Word 檔或其他) ，並由作者負責前二校。除筆誤與錯字外，作者在校稿時，不得擅自更改內容與數據。
2. 審稿程序請上網參閱本期刊「論文審查制度流程」，網址：http://www.tari.gov.tw/。

七、文稿必須是作者本身的著作，且作者為唯一的著作權擁有者，否則因此引發之法律責任將由作者負責。投稿應為未經刊登之文章，亦不得一稿多投。投稿需經所有作者同意。稿件經本期刊接受後，投稿人需繳交「著作權讓與書」，如未提供者，本期刊不予刊登。著作財產權屬農試所所有，非經本所書面同意，不得轉載或移轉他處發表。本期刊有權對文稿進行必要之詞句修改。

八、來稿經編審委員會審查合格後刊登，由本刊印贈抽印本 50 本；彩色頁印刷及抽印本加印費用由投稿人自行負擔。

九、其他未盡事宜本期刊得隨時修正或補充。

台 灣 農 業 研 究

（原中華農業研究）

第五十九卷　第一期

中華民國九十九年三月出版

發 行 人：劉 大 江
總 編 輯：方 尚 仁
主　　編：吳 宜 晏　陳 盈 佑
編審委員：
生 技 組：吳 明 哲（主審）
作 物 組：歐 錫 坤（主審）
黃 肇 家　楊 純 明　施 昭 彰
農 化 組：郭 鴻 裕（主審）
簡 宣 裕　劉 滄 棽
植 病 組：安 寶 貞（主審）
鄧 汀 欽
應 動 組：王 清 玲（主審）
陳 健 忠
農 工 組：蔡 致 榮（主審）
黃 禮 棟
種 原 組：黃 勝 忠（主審）
農 經 組：張 采 蘋（主審）
花卉中心：謝 廷 芳（主審）
嘉義分所：楊 宏 仁（主審）
鳳山分所：陳 甘 澍（主審）

另聘請各大學院校及研究機關相關學者專家擔任審查委員

Vol. 59, No. 1 March, 2010

JOURNAL
OF
TAIWAN AGRICULTURAL RESEARCH
(Formerly Journal of Agricultural Research of China)

PUBLISHER: Liu, Dah-Jiang

EDITOR IN CHIEF: Fang, Shan-Jen

EDITORS:

Wu, Yi-Yan   Chen, Ying-You

EDITORIAL BOARD:

Ann, Pao-Jen (Plant Pathology)
Chen, Kan-Shu (Tropical Horticulture)
Hsieh, Ting-Feng (Floriculture)
Ou, Shyi-Kuan (Crop Science)
Tsai, Wu-Hsiung (Subtropical Agriculture)
Wu, Min-Tze (Biotechnology)
Chang, Tsai-Ping (Agriculture Economics)
Guo, Horng-Yuh (Agriculture Chemistry)
Huang, Sheng-Chung (Crop Genetic Resources)
Tsai, Jyh-Rong (Agriculture Engineering)
Wang, Chin-Ling (Applied Zoology)

EDITORIAL ADVISORY BOARD:

Chen, Chien-Chung   Chien, Shiuah-Yuh   Deng, Ting-Chin
Huang, Chao-Chia   Huang, Li-Duhng   Liu, Tsang-Sen
Shih, Jau-Chang   Yang, Chwen-Ming   Yang, Hong-Ren

Reviewers of the related fields are also invited from universities and other research organizations.

台灣農業研究第五十九卷第一期

出 版 者：行政院農業委員會農業試驗所
發 行 人：劉大江
總 編 輯：方尚仁
地　　址：41362台中縣霧峰鄉萬豐村中正路189號
網　　址：http://www.tari.gov.tw
電　　話：(04)23302301
出版日期：中華民國九十九年三月三十一日
定　　價：新臺幣一七五元
展 售 處：五南文化廣場　400台中市中山路6號　(04)22260330
國家書店松江門市　104台北市松江路209號1樓　(02)25180207
國家網路書店　http://www.govbooks.com.tw
承 印 者：學安文化事業有限公司
電　　話：(04)22861600

ISSN 0022-4847
GPN 2009500560

March, 2010

Journal of Taiwan Agricultural Research

(Formerly Journal of Agricultural Research of China)

Vol. 59, No. 1

Research Reports

Effects of Short-term Night Interruption on the Growth, Development, and Yield of Rice
Yuh-Jyuan Lee, Chwen-Ming Yang, and Chiao-Ling Hsiao 1

Effect of Indoor Composting and Conventional Composting on the Yield of *Agaricus bisporus*
Jin-Tong Chen, Jin-Torng Peng, Meei-Hsing Chen, and Shiuan-Yuh Chien 19

Screening of *Trichoderma* spp. from Soils in Taiwan for Antagonism on Fungal Plant Pathogens
Hui-Fang Ni, Shu-Li Hsu, Ruey-Shyang Chen, and Hong-Ren Yang 29

Evaluation of Reproduction of *Pratylenchus coffeae* on Yam (*Dioscorea* spp.) *in vitro* Culture
Hui-Fang Ni, Su-Yu Lai, Shu-Li Hsu, Shu-Fen Chang, and Hong-Ren Yang 42

Influence of Metal Ion and Elicitor on Hairy Root Growth and Production of Tanshinones of *Salvia miltiorrhiza*
Uei-Chern Chen, Choi-Yi Lee, Hsiao-Sung Chan, Chin-Yi Tsao, and Chi-Ni Hsia 49

Research Notes

Establishment and Application of Taiwan Rice Information System
Chun-Tang Lu and Hsiu-Ying Lu 61

Published by Taiwan Agricultural Research Institute,
Council of Agriculture　　Taichung, Taiwan, Republic of China

行政院新聞局出版事業登記證局版臺省誌字第二九八號　中華郵政中臺字第〇三〇九登記為雜誌交寄

ISSN 0022-4847
9 770022 484003
GPN 2009500560
定價：新台幣一七五元